

## 塩酸ロメフロキサシンの硝子体内許容投与量と その眼内動態に関する研究

金沢大学医学部眼科学講座 (主任: 河崎一夫教授)

鳥 崎 真 人

塩酸ロメフロキサシン (lomefloxacin hydrochloride, LFLX) の硝子体内注入が網膜におよぼす影響を、網膜電図 (electroretinogram, ERG) の a 波, b 波, c 波, 律動様小波 (oscillatory potential, OP) および一部の実験では視覚誘発電位 (visually evoked potential, VEP) ならびに組織学的所見を指標として白色および有色ウサギで検討した。また電気生理学的および組織学的検討に基づいて網膜を障害しないと判断された量の LFLX を硝子体内注入した際の LFLX の眼内動態についても検討した。さらに LFLX を全身投与した際の正常眼 (硝子体非切除眼) および硝子体切除眼における LFLX の眼内移行性についても検討した。白色および有色ウサギの正常眼において LFLX 100 および 200 $\mu$ g 硝子体内注入では a 波, b 波, c 波, OP および VEP の早期成分はほとんど変化せず, 組織学的にも対照眼に比し異常所見はみられなかった。LFLX 500 および 1000 $\mu$ g 硝子体内注入では注入後 3 時間で b 波振幅が増大し OP 振幅が減少する傾向がみられたのに対し, a 波および c 波振幅は一定の傾向を示さなかった。LFLX 200 $\mu$ g 硝子体内注入後の硝子体内 LFLX 濃度は白色および有色ウサギともに注入 24 時間後まで指数関数的に減少し, その半減期はそれぞれ約 2.8 および 3.1 時間であった。角膜, 水晶体, 前房水および硝子体内の LFLX 濃度は各測定時点において白色ウサギと有色ウサギとで近似した値を示したが, 虹彩毛様体および網脈絡膜内の LFLX 濃度は注入後 12 時間以降では白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高かった。LFLX 20mg/kg 全身投与後の角膜, 水晶体, 前房水および硝子体内それぞれの LFLX 濃度には正常眼と硝子体切除眼とで明らかな差はなく, また白色ウサギと有色ウサギとの間にも明らかな差はなかった。虹彩毛様体および網脈絡膜内の LFLX 濃度は白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高かったが, 正常眼と硝子体切除眼との間では明らかな差を示さなかった。電気生理学的および組織学的所見を指標にすると, 網膜毒性の観点から, 臨床に用いる際の硝子体内注入量として LFLX 200 $\mu$ g を推奨する。また LFLX がメラニンを含む眼組織に長時間にわたり残留することから, 頻回あるいは長期間の LFLX 投与の際には副作用の発現に十分留意すべきである。

**Key words** lomefloxacin, intravitreal injection, retinal toxicity, intraocular pharmacokinetics, melanin

細菌性眼内炎は穿孔性眼外傷や眼内手術後あるいは全身の感染巣からの転移などにより生ずるきわめて重篤な眼感染症である<sup>1)</sup>。我が国における全国的統計<sup>2)</sup>によれば, 過去 5 年間ないし 20 年間に報告された細菌性眼内炎の総数は 280 例 323 眼と多くはないが, 化学療法の発達した今日でもなお本症は一旦発症すると失明に至る危険性が極めて高い<sup>3)~6)</sup>ので, その治療法には重大な関心が寄せられている。本症における病変の主座は硝子体にある<sup>1,7)</sup>とされているので, その治療に際しては硝子体内の抗菌剤濃度が有効濃度に達することが必須と考えられる。しかし眼内には眼血液関門と呼ばれるバリアー機構が存在し<sup>8)</sup>, 抗菌剤の点眼や結膜下注射などの局所投与あるいは全身投与では眼内, 特に硝子体内には抗菌剤が十分移行しない<sup>10)~13)</sup>とされている。従って抗菌剤を硝子体内に直接投与する方法が有用と考えられ, 近年では抗菌剤の硝子体内注入および硝子体切除術

時の眼内灌流液への抗菌剤の添加などが細菌性眼内炎の治療に際して行われている<sup>12,14)~17)</sup>。これら硝子体内への抗菌剤直接投与が有効であった症例の報告は数多くみられる<sup>12,14)~18)</sup>が, 一方では硝子体内に投与した抗菌剤そのものに起因したと思われる網膜障害の報告もみられる<sup>15)~22)</sup>ことから, 抗菌剤の安全な硝子体内投与量の決定はきわめて重要な問題である。

さて近年における抗菌剤, 特にフルオロキノロン系合成抗菌剤 (フルオロキノロン剤) の開発はめざましく, すでに数種のフルオロキノロン剤が臨床に應用されており, 眼科領域でも点眼液や内服薬の形で使用されている。塩酸ロメフロキサシン (lomefloxacin hydrochloride, LFLX) (図 1) は広い抗菌スペクトルとすぐれた抗菌力を有するはじめてのジフルオロキノロン剤であり<sup>23)</sup>, LFLX では点眼あるいは経口投与による眼組織内移行が従来のモノフルオロキノロン剤に比べ良好とされてい

平成 6 年 1 月 27 日受付, 平成 6 年 2 月 28 日受理

Abbreviations: ERG, electroretinogram; GABA, gamma-aminobutylic acid; HPLC, high performance liquid chromatography; LFLX, lomefloxacin hydrochloride; MIC, minimum inhibitory concentration; OP, oscillatory potential; PAE, postantibiotic effect; VEP, visually evoked potential; GA 液, 2.5% グルタルアルデヒド液-0.05M リン酸緩衝液

る<sup>24)25)</sup>。しかし細菌性眼内炎の治療に際しては、LFLX においても点眼あるいは経口投与による硝子体内移行量は十分とはいえない<sup>24)25)</sup>ので、眼内への LFLX 直接投与がより効果的と考えられる。本研究においては LFLX の硝子体内注入がウサギ網膜におよぼす影響を検討し、その結果に基づいて臨床的に安全な LFLX 硝子体内注入量を決定することを主目的とする。またウサギ網膜を障害しないと考えられる量の LFLX を硝子体内に注入した際の LFLX の眼内動態についてもあわせて検討する。さらに LFLX を全身投与した際の眼内移行について正常眼(硝子体非切除眼)と硝子体切除眼で検討し、硝子体切除術が眼血液関門におよぼす影響を考察する。従って本研究において LFLX の網膜毒性および眼内動態を明らかにすることは、臨床において細菌性眼内炎の治療に LFLX を眼内あるいは全身に投与する際の安全でより有効な投与法の確立に寄与するものと思われる。

## 対象および方法

### 1. 電気生理学的および組織学的検討

#### 1. 実験動物、使用薬剤ならびに注入薬剤濃度

実験動物としてはウサギ用固形飼料 RM-3 (船橋農場、千葉)にて予め1週間以上飼育した体重 2~3kg の白色ウサギ7匹および有色ウサギ9匹を使用した。本実験では硝子体内注入前の眼底検査にて網膜に異常が認められたウサギおよび硝子体内注入前の網膜電図 (electroretinogram, ERG) 検査にて左右差が明らかなウサギ (b 波振幅にて20%をこえる差) を用いなかった。実験に先立ち、0.5%トロピカミドと0.5%塩酸フェニレフリン (ミドリン®P, 参天製薬、大阪) の点眼により瞳孔は十分に拡大された。

使用した LFLX は研究用原末 (力価 906 $\mu$ g/mg, 北陸製薬、福井) であった。LFLX 100 または 200 $\mu$ g 硝子体内注入に際しては、LFLX 研究用原末を眼内灌流液 (オペガード®MA, 千寿製薬、大阪) で溶解して 1mg/ml の濃度の LFLX を含む硝子体内注入用薬液を作製した。また LFLX 500 または 1000 $\mu$ g 硝子体内注入に際しては、LFLX がオペガード®MA には溶けにくい (pH7 前後では0.1%) ので LFLX 研究用原末を点眼用基剤 (千寿製薬) で溶解してそれぞれ 5 または 10mg/ml の濃度の LFLX を含む硝子体内注入用薬液を作製した。

LFLX の硝子体内注入量 ( $\mu$ g) および硝子体内濃度 ( $\mu$ g/ml) (容積約 1.7ml のウサギ硝子体内に均等に拡散すると仮定した場合) を以下の本文中に記載した。

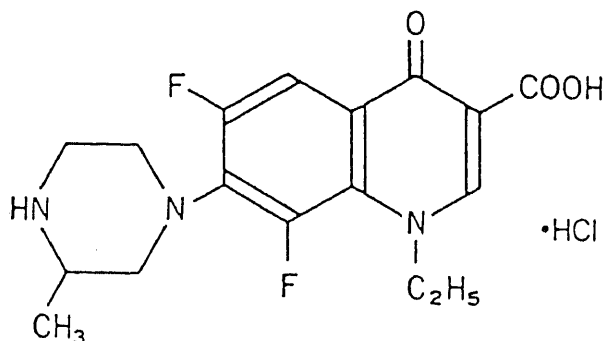


Fig. 1. Chemical structure of lomefloxacin hydrochloride (LFLX).

実験に使用した LFLX 硝子体内注入量と電気生理学的および組織学的検討にそれぞれ用いた各ウサギの数を表 1 および表 2 に示す。

### 2. 硝子体内注入法

薬剤注入前に0.4%塩酸オキシブプロカイン (ベノキシル®, 参天製薬) による点眼麻酔を行った。硝子体内注入による眼圧上昇を防ぐ目的で、まず球結膜上より上直筋付着部を鑷子で固定し、1ml 用注射器に接続した27ゲージの注射針を角膜輪部より前房内にその切り口を角膜側に向けて約 4mm 刺入し、0.1ml (LFLX200 $\mu$ g 注入の際には 0.2ml) の前房水を吸引排除した。次に上直筋付着部を鑷子で固定したままの状態、1ml 用注射器に接続した30ゲージの注射針を用いて角膜輪部より後方約 2mm の強膜から硝子体腔はば中央に針の切り口を水晶体側に向けて刺入し、薬剤を緩徐に注入した。LFLX100 または 200 $\mu$ g 注入にはそれぞれ 1mg/ml の濃度に LFLX を溶解した注入用薬液 0.1 または 0.2ml を、また LFLX500 または 1000 $\mu$ g 注入にはそれぞれ 5 または 10mg/ml の濃度に LFLX を溶解した注入用薬液 0.1ml を用いた。さらに LFLX500 または 1000 $\mu$ g 注入の際に LFLX の溶解に用いた点眼用基剤の影響を調べる目的で、点眼用基剤 0.1ml の硝子体内注入を行った。被検眼の硝子体内に LFLX を溶解した注入用薬液または点眼用基剤を、他眼 (対照眼) には同容積のオペガード®MA を注入した。

なお薬剤の硝子体内注入後3時間の ERG 記録の終了時に眼底検査を行い、眼底に出血あるいは網膜剝離など注入による重篤な偶発症が生じていないことを確認した。

### 3. 電気生理学的検査

ウレタン (カルバミン酸エチル) (東京化成、東京) 200~400 mg/kg/hr の点滴静脈内注射により麻酔を施した。ERG 記録用

Table 1. Protocol of experiments on electrophysiological effects of intravitreal injection of lomefloxacin hydrochloride (LFLX)

Dose of LFLX ( $\mu$ g)	Number of rabbits tested	
	Albino	Pigmented
100	1	1
200	1	3
500	2	2
1000	1	1
Vehicle for ophthalmic solution	2	2

Table 2. Protocol of experiments on histological effects of intravitreal injection of LFLX

Dose of LFLX ( $\mu$ g)	Number of rabbits tested	
	Albino	Pigmented
100		1
200	1	2
500	1	2
1000	1	1
Vehicle for ophthalmic solution		1

関電極として、銀・塩化銀電極 NT-614U (日本光電, 東京) を生理食塩水で満たした 10ml 注射筒の中に置き、注射筒の先端に接続したシリコンチューブの他端をウサギ用に作製した開眼器に取り付け、シリコンチューブ先端に充填した白綿を角膜輪部上に置いた。不関電極にも同様の電極を使用し、剃毛した頭頂部皮膚正中線上に置いた。

光刺激には直流安定化電源 Xenon Arc 45 (Xebex, 東京) にて点灯したキセノンアーク灯を光源とする ERG 用光刺激装置 (三双製作所, 東京) を用いた。刺激光はレンズにて集光された後、Y 字型硝子線維束を介して両眼に送られた。硝子線維束の射出端 (直径 4mm) は両眼の角膜前方約 1cm に置かれた。角膜面照度約 5 lux で持続時間 5sec の単発矩形波光により惹起された ERG の b 波および c 波, ならびに角膜面照度約  $5 \times 10^3$  lux で持続時間 0.5sec, 刺激頻度 1/3Hz の矩形波光により惹起された a 波, b 波および律動様小波 (oscillatory potential, OP) を記録した。a 波, b 波および c 波の観察には、ERG 電位を直流増幅器 RM-5 (日本光電) で増幅し、FM データレコーダー NFR-3515 (ソニー, 東京) に記録し、応答加算平均装置 ATAC-350 (日本光電) 上で写真撮影するとともにペンレコーダー WX4401 (グラフィック, 東京) で描出した。OP の観察には、ERG 電位を時定数 3msec の交流増幅器 AB-622M (日本光電) で増幅した後に応答加算平均装置 ATAC-350 (日本光電) で 10 回加算平均した。

原則として、ERG 記録を LFLX 硝子体内注入前、注入後 3 時間、2 日目、1, 2, 4 および 8 週目 (16 匹中 6 匹については注入後 12 週目) に行った。

LFLX 注入後 16~31 週目の間の一時点において白色ウサギ 5 匹および有色ウサギ 2 匹で視覚誘発電位 (visually evoked potential, VEP) を記録した。塩酸ケタミン (ケタラール<sup>®</sup>50, 三共, 東京) 20mg/kg の筋肉内注射を施し、静穏を確認した後に 1% 塩酸リドカイン (キシロカイン<sup>®</sup>注射液 1%, 藤沢薬品, 大阪) による局所麻酔下で気管切開を行った。気管カニューレを挿入して人工呼吸 (1 回換気量 40ml, 60 回/分) を行い、塩化ツボクラリン (アメリゾール<sup>®</sup>, 吉富製薬, 大阪) 0.5mg/kg/hr 筋肉内注射により無動化し、眼瞼および瞬膜を切除した。VEP 用関電極としてコルチコ電極 Type UD (ユニークメディカル, 東京) を用い、ラムダ (lambda) の前方 6mm かつ側方 6mm の硬膜上 (左右にそれぞれ 1 か所) に置いた。VEP の不関電極として ERG と同様の銀・塩化銀電極 NT-614U (日本光電) を用い、前頭部頭蓋骨上に置いた。VEP 電位は交流増幅器 AB-622M (日本光電) で増幅され、応答加算平均装置 ATAC-350 (日本光電) で 10 回加算平均された。増幅器の時定数を 2sec とした。刺激光強度、持続時間および刺激頻度はそれぞれ約  $5 \times 10^3$  lux (角膜面照度), 1sec および 0.2Hz であった。

「成績」に示す ERG および VEP 波形において上向きの振れは関電極側の陽性を意味する。各ウサギについて、ERG の a 波, b 波および OP では振幅ならびに頂点潜時を、c 波では振幅を、また VEP では早期成分の頂点潜時を各測定時点ごとに計測した。なお ERG の a 波, b 波および c 波振幅値は、a 波では基線から a 波の底まで、b 波では a 波の底から b 波の頂点まで、また c 波では基線から c 波の頂点までとした。OP 振幅の計測に関しては統一の見解がまだないようであり、本研究では原則として米村ら<sup>20)</sup>の計測法を用いた。すなわち時定数 3msec で記録した OP の上向きおよび下向きの振れを、それぞ

れ頂点潜時の短い順に  $O_1$  および  $O_2$ ,  $N_1$  および  $N_2$  と呼称すると、 $O_1$  振幅は ERG 波形の a 波底から  $O_1$  に至る曲線と基線との交点と  $N_1$  を結ぶ直線まで  $O_1$  の頂点より垂直におろした線分の長さで示され、 $O_2$  振幅は  $N_1$  と  $N_2$  を結ぶ直線まで  $O_2$  の頂点より垂直におろした線分の長さで示された。

ウサギ VEP には初期陽性応答と遅発陰性徐波がみられる。初期陽性応答では個体差が小さいが、遅発陰性徐波は種々の要因によって変化しやすい<sup>27)</sup>とされるので、本研究では VEP 波形の中で初期陽性応答すなわち早期成分のみを指標とした。

ERG 波形は光刺激および記録条件を一定に保っても記録時ごとの電極の位置、電極と生体間の電気抵抗、動物の全身状態などのわずかな違いによって影響を受けうる<sup>28-30)</sup>。また ERG の個体内変動 (日内変動や日差変動など) を避けることはできない。従って本研究では日内変動の影響をなるべく少なくするために ERG 記録を 1 日のうちの一定時間帯 (午後 3~7 時) に行った。またウサギ ERG の a 波および b 波振幅において同一眼の日差変動が左右眼の間での相違よりも大きいとする Lawwill<sup>29)</sup>の報告に鑑み、ERG 変化については片眼を対照眼、他眼 (検眼) を被検眼として左右眼での比較検討を行った。すなわち各測定時点に記録された対照眼の a 波, b 波, c 波および OP の振幅を 100% とし、LFLX 注入眼の上記諸波の振幅を百分率で表示した。

長期的に ERG を記録した場合の ERG 変化の有意性の判定の基準にはいまだ定見がない。Declercq ら<sup>31)</sup>によれば白色ウサギ ERG において a 波および b 波の左右眼での振幅差の平均値は左眼または右眼の振幅値の 10% 以下であったという。また Zachary ら<sup>32)</sup>は b 波振幅が対照眼の振幅の平均値の 86% 以下を有意な減少と判定した。Declercq ら<sup>31)</sup>および Zachary ら<sup>32)</sup>の報告に加え、硝子体内注入という手技の網膜におよぼす影響を考慮して、本研究では各波形の振幅変化に対する有意性の判定基準として  $\pm 20\%$  以内の変化を有意とみなさなかった。a 波, b 波および OP の頂点潜時においても同様に百分率を求めて検討した。

#### 4. 眼底撮影および蛍光眼底造影

有色ウサギ 5 匹において、LFLX 注入後 10~15 週目に眼底撮影および蛍光眼底造影を行った。検査に先立ち、瞳孔は 0.5% トロピカミドと 0.5% 塩酸フェニレフリン (ミドリン<sup>®</sup>P, 千寿製薬) の点眼により十分に散大された。使用した眼底カメラは TOPCON TRC-W (トプコン, 東京) であった。蛍光眼底造影に際しては 10% フルオレセイン (フルオレサイト<sup>®</sup>注射液 1 号, 日本アルコン, 東京) (0.1ml/kg) をウサギ耳静脈より注射した。

#### 5. 組織学的検査法

白色ウサギ 3 匹および有色ウサギ 7 匹を用いた (表 2)。白色ウサギ 3 匹および有色ウサギ 3 匹については LFLX 注入後 16~31 週目の VEP 記録の終了後に、ウサギ硝子体内に 2.5% グルタルアルデヒド液 -0.05M リン酸緩衝液 (GA 液) (pH 7.2~7.4) 0.2ml を注入した。注入後、可及的速やかに 5% ペントバルビタールナトリウム (ネンブタール<sup>®</sup>, 大日本製薬, 大阪) 2~3ml の静脈内注射で屠殺し、直ちに眼球を摘出した。また有色ウサギ 4 匹については片眼のみに LFLX 200, 500 または 1000  $\mu$ g を注入し、4 週間後に同様にして眼球を摘出した。

摘出眼球を GA 液に 1 分間浸漬した後に、眼球の赤道部強膜に角膜輪部と平行に 4~5mm の切開を加えた。さらに GA 液中で 15 分間浸漬固定した後に、眼球の赤道面で前後に二分し、

10%ホルマリン液中に固定・保存した。次にエタノール系列にて脱出し、パラフィン包埋とし、5 $\mu$ mに薄切してヘマトキシリン・エオジン染色を施し、網膜を光学顕微鏡にて観察した。

## II. 硝子体内注入後の眼内動態

### 1. 実験動物、薬剤投与方法および試料採取法

体重 2~3kg の白色ウサギ24匹および有色ウサギ12匹を用いた。実験に使用した薬剤は LFLX の研究用原末 (力価 906 $\mu$ g/mg, 北陸製薬) であった。

白色ウサギ12匹および有色ウサギ12匹においては両眼に、他の白色ウサギ12匹においては片眼に LFLX の硝子体内注入を行った。硝子体内注入法としては前述したように、前房水を0.2ml 穿刺吸引した後に、角膜輪部より後方約 2mm の強膜から硝子体腔はぼ中央に30ゲージの注射針を刺入し、LFLX200 $\mu$ g を含む 0.2ml のオペガード<sup>®</sup> MA を緩徐に注入した。硝子体内注入後 6, 12, 24, 48, 72 および96時間の各時点でそれぞれ2匹において眼球を摘出し、ほぼ同時に心腔内より約 5ml の動脈血を採取した。生理食塩水で摘出眼球を直ちに洗浄して眼球に付着した血液成分などを除去した。濾紙にて眼球周囲の水分を吸収した後に、1ml 用注射器に接続した26ゲージの注射針を輪部より刺入し、角膜、虹彩および水晶体に注射針が触れないように注意しながら約 0.15~0.2ml の前房水を採取した。前房水の採取後にアセトンドライアイスにて摘出眼球を可及的速やかに凍結し、また動脈血を2000回転/分で20分間遠心し血清を分離した。次いで凍結した眼球から角膜、水晶体、硝子体、虹彩毛様体および網脈絡膜を分離し、速やかに各組織の湿重量を測定した。前房水および血清を含めたすべての試料を-80℃にて凍結保存した。

### 2. 試料の処理法および LFLX 濃度測定法

角膜、水晶体、硝子体、虹彩毛様体および網脈絡膜の各試料に 0.2M リン酸緩衝液 (pH7.0) 1.0ml および内部標準液として KK-123 溶液 (0.32 $\mu$ g/ml) 0.2ml をそれぞれ加え、その中で試料を細切した。血清ではその 0.3ml に 0.2M リン酸緩衝液 (pH7.0) 0.7ml および KK-123 溶液 0.2ml を加えた。以上の処理を行った後、さらにイソアミルアルコール：クロロホルム=1:19 の混合液 6ml を加え30分間振盪し、遠心分離 (2000回転/分) を10分間行った。遠心分離後の有機層 5ml を採取し、蒸発器 (evaporator) で減圧乾固した後に高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography, HPLC) の溶離液 0.5ml でサンプリングし、その 10 $\mu$ l を濃度測定に用いた。前房水ではその 10 $\mu$ l を無処理で測定に用いた。

各試料中の LFLX 濃度を HPLC で測定した。カラムには AM-302 (ワイエムシィ, 京都) を用い、カラム温度を35℃とした。溶離液にはアセトニトリル: 50mM クエン酸: 1M酢酸アンモニウム=22: 77: 1 の混合液を使用し、流速を 1.2ml/分とした。LFLX の検出には分光蛍光光度計 F-1050 (日立製作所, 東京) を用い、励起波長を 280nm, 蛍光波長を 455nm とした。

各組織ごとの LFLX 測定限界 ( $\mu$ g/ml あるいは  $\mu$ g/g 組織) は、角膜で0.02, 水晶体で0.005, 硝子体で0.004, 虹彩毛様体で0.02, 網脈絡膜で0.05, 前房水で0.002および血清で0.003であった。

測定値を平均値土標準偏差 (mean $\pm$ SD) で表示した。2群間の有意差検定には Wilcoxon 順位検定を用い、危険率 5% 未満を有意差ありと判定した。統計学的処理に際しては測定限界未満を 0 とした。

## III. 全身投与による眼内移行および硝子体切除術の影響

### 1. 実験動物および薬剤投与方法

LFLX 経口投与 1 時間後における眼内移行の検討 (1 時間群) には体重 2~3kg の白色ウサギ 6 匹および有色ウサギ 6 匹を、また経口投与 2 時間後における眼内移行の検討 (2 時間群) には体重 1.5~3kg の白色ウサギ 10 匹および有色ウサギ 10 匹を使用した。投与薬剤としては LFLX の研究用原末 (力価 906 $\mu$ g/mg, 北陸製薬) を滅菌生理食塩水で 0.5% 懸濁液に調製して使用した。1 時間群ではウサギの片眼あるいは両眼に硝子体切除術を行い、白色ウサギ 4 匹 (硝子体切除眼 4 眼, 硝子体非切除眼 4 眼) および有色ウサギ 4 匹 (硝子体切除眼 5 眼, 硝子体非切除眼 3 眼) においては術後 1 日目に、白色ウサギ 2 匹 (硝子体切除眼 4 眼) および有色ウサギ 2 匹 (硝子体切除眼 3 眼, 硝子体非切除眼 1 眼) においては術後 1 週目の時点で LFLX 20mg/kg の経口投与を行った。2 時間群ではすべてのウサギの右眼に硝子体切除術を行い、白色および有色ウサギそれぞれ 5 匹において術後 1 日目に、また残りの白色および有色ウサギそれぞれ 5 匹においては術後 1 週目の時点で同じく LFLX 20mg/kg の経口投与を行った。投与前に12時間絶食させた上で、ウサギの胃内にゴム製カテーテルを挿入し LFLX 懸濁液を強制的に投与した。なお硝子体切除術後 1 日目および 1 週目の LFLX 投与に先立ち、前眼部および眼底検査において異常がないことを確認しておいた。

### 2. 硝子体切除術

実験に先立ち、0.5% トロピカミドと 0.5% 塩酸フェニレフリン (ミドリリン<sup>®</sup> P, 参天製薬) の点眼により瞳孔は十分に散大された。ケタラル<sup>®</sup> 50 (三共) およびキシラジン塩酸塩 (セラクター<sup>®</sup> 2% 注射液, バイエル, レバークーゼン, ドイツ) の 7: 1 の混合液 0.5~1ml/kg の筋肉内注射により全身麻酔を施した。四肢および頭部を固定した後、キシロカイン<sup>®</sup> 注射液 1% (藤沢薬品) 約 1ml にて球後注射を行い眼球を前方に脱臼させ、硝子体切除術を開始した。まず切開予定の強膜部位に相当する部分の結膜を手術用顕微鏡 OMS-80GT (トプコン) 下で切開し、角膜輪部から約 2mm の強膜 2 か所にマイクロビトレオレチナルブレード (アルコン, テキサス, 米国) で小切開を加えた。強膜創の一方にはインフュージョンニードルを 5-0 ダクロン糸 (日本レダリー, 東京) を用いて縫着 (右眼の場合には 9 時方向, 左眼の場合には 3 時方向) し、眼内灌流液 (BSS plus<sup>®</sup>, 参天製薬) を眼内に灌流した。他方の強膜創 (ほぼ 6 時方向) から硝子体切除器具 (オキュトーム<sup>®</sup>, バークレイ, カリフォルニア, 米国) を眼内に挿入し、硝子体手術用コンタクトレンズを使用して水晶体および網膜に接触しないように留意しながら出来るかぎり硝子体を切除した。この際に眼内照明を用いず、手術用顕微鏡の同軸照明のみで眼底を観察しながら手術を行った。ついで硝子体切除器具を抜去し 7-0 バイクリル糸 (ジョンソン・エンド・ジョンソンメディカル, 東京) にて強膜創を閉じた後、インフュージョンニードルを除去し同様の縫合糸で創を閉じた。術直後に著しく低眼圧であった場合には、同様の灌流液 (BSS plus<sup>®</sup>) を眼内に追加注入し眼圧を調整した。結膜切開創を 7-0 バイクリル糸 (ジョンソン・エンド・ジョンソンメディカル) にて縫合した。一眼についての硝子体切除時間は約 10 分間で、眼内灌流量は約 50ml であった。灌流液の温度を 20~24℃ とした。

### 3. 試料の採取および処理法ならびに LFLX 濃度測定法

LFLX 経口投与 1 または 2 時間後にケタラル® 50 (三共) 20mg/kg の筋肉内注射による麻酔下で眼球を摘出し、ほぼ同時に心腔内より約 5ml の動脈血を採取した。

1 時間群ではその後、前述の硝子体内注入後の眼内動態の実験 (II-1, 2) と同様にして角膜、水晶体、硝子体、虹彩毛様体、網脈絡膜、前房水および血清の各試料の採取および処理を行い、HPLC にて各試料内の LFLX 濃度を測定した。各組織ごとの LFLX 測定限界は前述の硝子体内注入後の眼内動態の実験 (II-2) と同様であった。2 群間の有意差検定には Wilcoxon 順位検定を用い、危険率 5 % 未満を有意差ありと判定した。

2 時間群では後述する LFLX のメラニン親和性の影響についても検討する目的で以下の処理を行った。すなわち 1ml 用注射器に接続した 26 ゲージの注射針を用いて摘出眼球から前房水を 0.15~0.2ml 採取した後に、可及的速やかに実体顕微鏡下で眼球を角膜、水晶体、硝子体、虹彩毛様体、神経網膜、網膜色素上皮-脈絡膜および強膜の各組織に分割した。動脈血の遠心分離 (2000 回転/分、20 分間) により血清を採取した。ついでネンブタール® (大日本製薬) 2~3ml の静脈内注射にて屠殺した後に両側の視神経を採取した。速やかにこれらの各試料の湿重量を測定した後に -80℃ にて凍結保存した。角膜、水晶体、神経網膜、強膜および視神経の各試料に 0.2M リン酸緩衝液 (pH7.0) 1.1ml および内部標準液として KK-123 溶液 (2.0 $\mu$ g/ml) 0.1ml を加え十分ホモジナイズした。遠心分離 (10000 回転/分) を 30 分間行った後に、その上清 1ml に 0.2M リン酸緩衝液

0.2ml およびイソアミルアルコール:クロロホルム =1:19 の混合液 6ml を加えて 10 分間振盪した。3000 回転/分で 10 分間遠心分離を行い、有機層 5ml を採取した。虹彩毛様体および網膜色素上皮-脈絡膜では、試料に KK-123 溶液 (2.0 $\mu$ g/ml) 0.1ml および蒸留水 0.6ml を加え十分ホモジナイズした後に、1N 水酸化ナトリウム溶液 0.5ml を加え 37℃ で 30 分間インキュベートした。遠心分離 (10000 回転/分) を 30 分間行った後にその上清 1ml に 0.2M リン酸緩衝液 0.2ml を加え、さらに 1N 塩酸で pH7.0 に調整した。これにイソアミルアルコール:クロロホルム =1:19 の混合液 6ml を加えて 10 分間振盪した後に 3000 回転/分で 10 分間遠心分離を行い、有機層を 5ml 採取した。また血清ではその 0.1ml に 0.2M リン酸緩衝液 (pH7.0) 0.3ml, KK-123 溶液 (2.0 $\mu$ g/ml) 0.1ml およびイソアミルアルコール:クロロホルム =1:19 の混合液 6ml を加え 10 分間振盪した後に、3000 回転/分で 10 分間遠心分離を行い有機層を 5ml 採取した。以上の操作で得られたそれぞれの有機層を蒸発器 (evaporator) で減圧乾固した後に HPLC の溶離液 (アセトニトリル:50mM クエン酸:1M 酢酸アンモニウム =22:77:1) 0.2ml でサンプリングし、その 20 $\mu$ l を濃度測定に用いた。なお前房水および硝子体では試料 0.1ml に 0.2M リン酸緩衝液 (pH7.0) 0.1ml を加え振盪した後にその 20 $\mu$ l を測定に用いた。各試料中の LFLX 濃度を HPLC で測定した。カラムには Nucleosil 100-7C18 (GL サイエンス、東京) を用い、溶離液の流速を 1.2ml/分とした。LFLX の検出には分光蛍光光度計 F-1050 (日立製作所) を用い、励起波長を 280nm、蛍光波長を 455nm とした。各組織ごとの測定限界 ( $\mu$ g/ml あるいは  $\mu$ g/g 組織) は角膜で 0.05、水晶体で 0.008、硝子体で 0.025、虹彩毛様体で 0.05、神経網膜で 0.05、網膜色素上皮-脈絡膜で 0.06、強膜で 0.015、視神経で 0.10、前房水で 0.025 および血清で 0.025 で

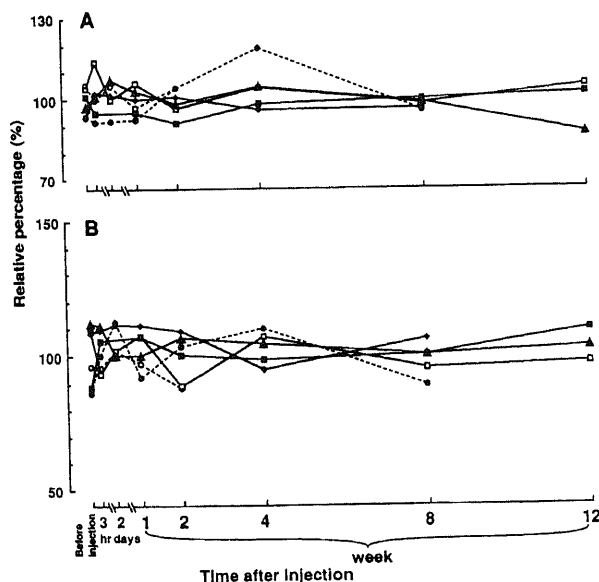


Fig. 2. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the a-wave induced by an intravitreal injection of 100 or 200  $\mu$ g LFLX in albino and pigmented rabbits. The percentages of the latencies and amplitudes in the tested eye to those in the control fellow eye, (tested eye/control fellow eye)  $\times 100$  (%), are plotted against time before and after injection in all graphs to illustrate ERG data throughout the present paper. The open and filled symbols indicate albino and pigmented rabbits, respectively, in all graphs to illustrate ERG data throughout the present paper. Broken and solid lines indicate the changes by 100 and 200  $\mu$ g LFLX injection, respectively. Stimulus intensity was  $5 \times 10^3$  lux at the cornea. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 3, 4 and 5.

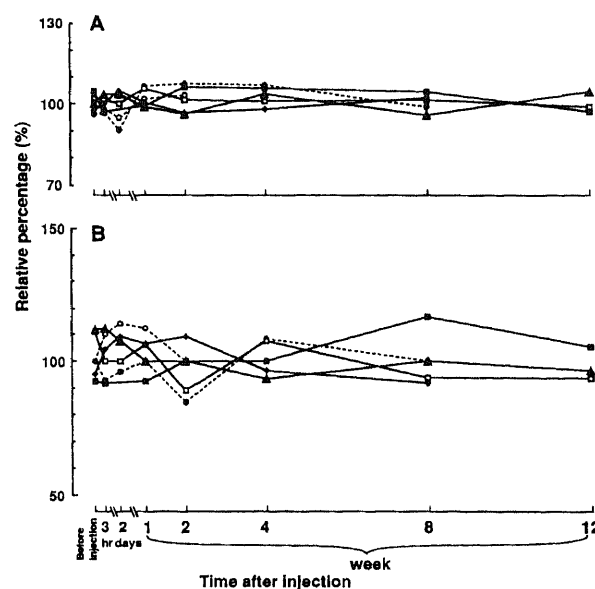


Fig. 3. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the b-wave induced by an intravitreal injection of 100 or 200  $\mu$ g LFLX in albino and pigmented rabbits. Broken and solid lines indicate the changes by 100 and 200  $\mu$ g LFLX injection, respectively. Stimulus intensity was 5 lux at the cornea. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 2, 4 and 5. Other conditions were the same as in Fig. 2.

あった。測定値を平均値±標準偏差 (mean±SD) で表示した。2群間の有意差検定には Wilcoxon 順位和検定を用い、危険率5%未満を有意差ありと判定した。統計学的処理に際しては測定限界未満を0とした。

## 成 績

### 1. 網膜毒性の検討

1. LFLX 100 $\mu$ g 硝子体内注入 (硝子体内濃度約 59 $\mu$ g/ml) (白色ウサギ1匹および有色ウサギ1匹)

白色ウサギ1匹および有色ウサギ1匹において、対照眼に比し LFLX 注入眼の a 波、b 波および OP の振幅ならびに頂点潜時には有意な変化はなかった (図2~4)。また c 波振幅につ

いても LFLX 注入眼に有意な変化はなかった (図5)。有色ウサギにおける注入後20週目の VEP においても対照眼刺激と LFLX 注入眼刺激との間で有意差はなかった (図6)。

注入後10週目に有色ウサギに対して行った眼底撮影および蛍光眼底造影において、対照眼に比し LFLX 注入眼に異常所見はみられなかった。

注入後20週目に採取した有色ウサギ網膜の組織学的所見には明らかな異常はみられなかった (図7)。

2. LFLX 200 $\mu$ g 硝子体内注入 (硝子体内濃度約 120 $\mu$ g/ml) (白色ウサギ1匹および有色ウサギ5匹)

白色ウサギ1匹および有色ウサギ3匹においてはほぼ同様の電気生理学的所見が得られた。すなわち注入後8ないし12週目ま

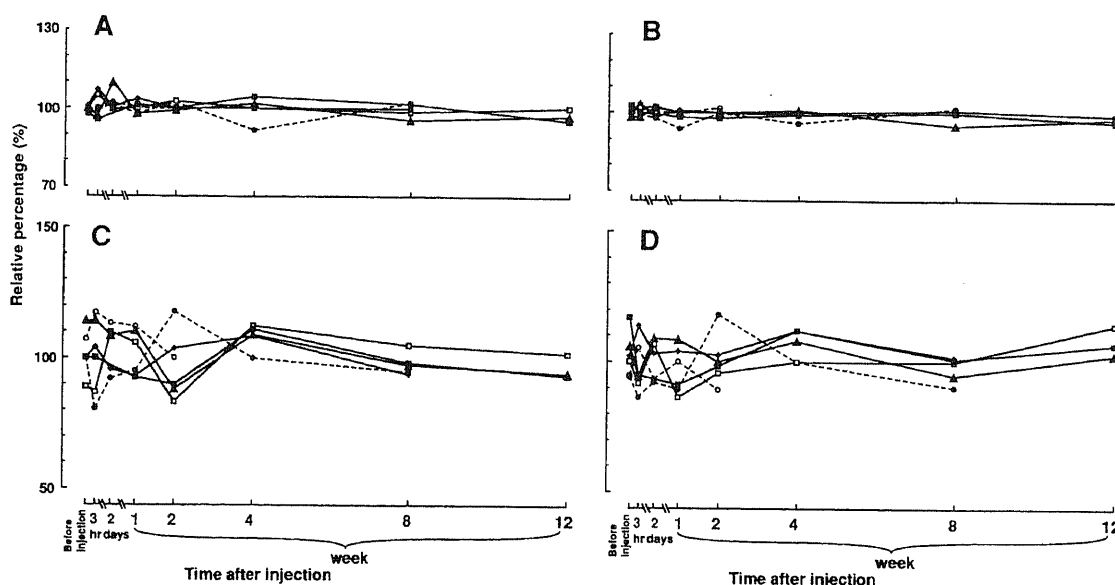


Fig. 4. Changes of the latency (A, B) and amplitude (C, D) of the oscillatory potential ( $O_1$ ; A, C;  $O_2$ ; B, D) induced by an intravitreal injection of 100 or 200  $\mu$ g LFLX in albino and pigmented rabbits. Broken and solid lines indicate the changes by 100 and 200  $\mu$ g LFLX injection, respectively. Stimulus intensity was  $5 \times 10^3$  lux at the cornea. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 2, 3 and 5. Other conditions were the same as in Fig. 2.

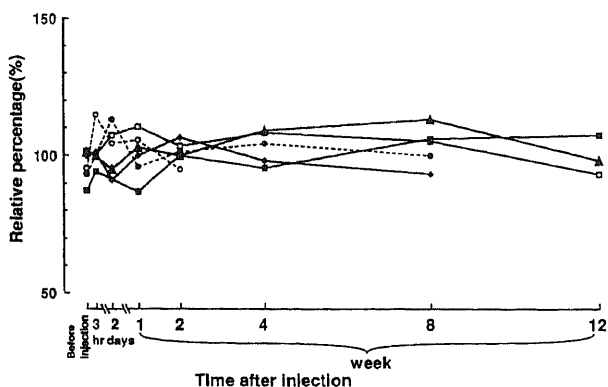


Fig. 5. Changes of the amplitude of the c-wave induced by an intravitreal injection of 100 or 200  $\mu$ g LFLX in albino and pigmented rabbits. Broken and solid lines indicate the changes by 100 and 200  $\mu$ g LFLX injection, respectively. Stimulus intensity was 5 lux at the cornea. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 2, 3 and 4. Other conditions were the same as in Fig. 2.

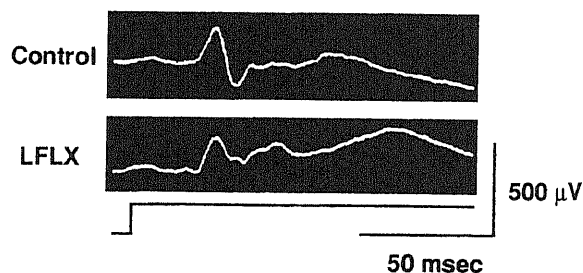


Fig. 6. Effects of an intravitreal injection of 100  $\mu$ g LFLX on the visually evoked potential (VEP) of a pigmented rabbit. The initial positive response of the VEP was unchanged 20 weeks after injection. Each trace shows the averaged waveform of 10 responses. The upper and lower traces show the responses to the stimulation of the control eye and LFLX-injected eye, respectively. Time constant, 2 sec. Stimulus intensity was  $5 \times 10^3$  lux at the cornea. Stimulus frequency and duration were 0.2 Hz and 1 sec, respectively. Upward deflection indicates positivity of the electrode on the dura mater in this figure and Fig. 16. The upward deflection at the bottom indicates the onset of stimulus light.

で対照眼に比し LFLX 注入眼の a 波, b 波および OP の振幅ならびに頂点潜時には有意な変化はなかった (図 2~4, 8, 9). また c 波振幅についても LFLX 注入眼に有意な変化はなかった (図 5, 8). 白色ウサギにおける注入後 26 週目の VEP においても対照眼刺激と LFLX 注入眼刺激との間で有意差はなかった.

注入後 15 週目に有色ウサギ 1 匹に対して行った眼底撮影および蛍光眼底造影において, 対照眼に比し LFLX 注入眼に異常所見はみられなかった (図 10).

注入後 26 週目に白色ウサギ 1 匹より採取した網膜の組織学的所見には明らかな異常はみられなかった. また注入後 4 週目に

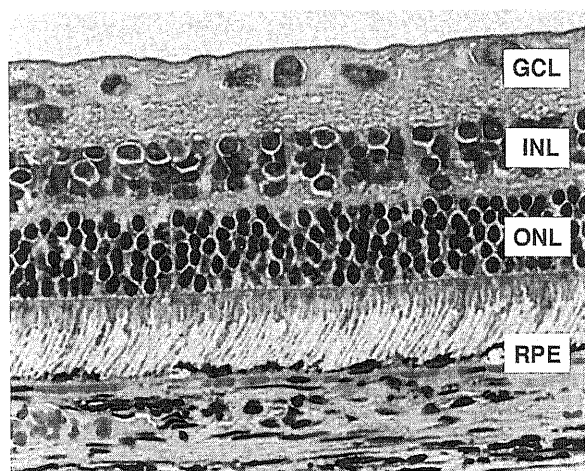


Fig. 7. Light micrograph of the retina of a pigmented rabbit 20 weeks after an intravitreal injection of 100 µg LFLX. No abnormal change was observed in the retinal histology. Hematoxylin-eosin stain. Magnification,  $\times 200$ . GCL, ganglion cell layer; INL, inner nuclear layer; ONL, outer nuclear layer; RPE, retinal pigment epithelium.

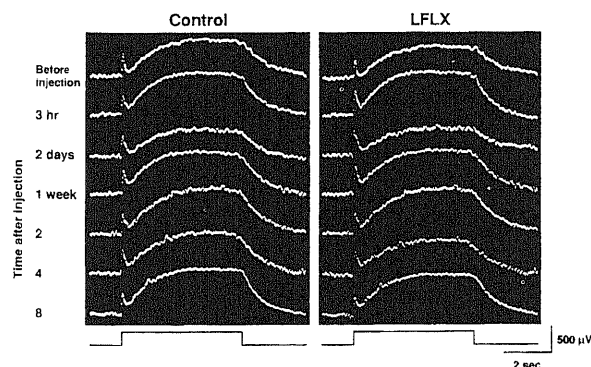


Fig. 8. Effects of an intravitreal injection of 200 µg LFLX on the ERG of a pigmented rabbit. The b- and c-waves were not deteriorated throughout the follow-up period up to 8 weeks. The right and left columns show the responses from the LFLX-injected eye and the control fellow eye, respectively. Direct-coupled amplification. A single rectangular stimulus light was used. Stimulus intensity was 5 lux at the cornea. Stimulus duration was 5 sec. Upward deflection indicates positivity of the corneal electrode in all figures showing the ERG in the present paper. Rectangular waveforms at the bottom indicate the onset (upward deflection) and termination (downward deflection) of stimulus light in this figure and all other figures showing the ERG.

有色ウサギ 2 匹より採取した網膜においても明らかな異常はみられなかった (図 11).

3. LFLX 500 µg 硝子体内注入 (硝子体内濃度約 290 µg/ml) (白色ウサギ 2 匹および有色ウサギ 3 匹)

有色ウサギ 2 匹において a 波振幅が注入後 3 時間から 2 日目ないし 1 週目まで約 130~160% に増大あるいは約 70% に減少したが, 注入後 8 週目以降には回復した (図 12). 白色ウサギ 2 匹においては a 波振幅に有意な変化はなかった (図 12). b 波振幅は白色ウサギ 2 匹および有色ウサギ 1 匹において注入後 3 時間目に約 130% に増大したが, 注入後 2 週目までには回復した (図 13). c 波振幅は有色ウサギ 1 匹において一時的に約 120~130% に増大したが, 他の 3 匹では c 波振幅に有意な変化はなかった (図 14). OP の  $O_1$  および  $O_2$  にはほぼ同様の傾向がみられた. すなわち注入後 3 時間目に有色ウサギ 1 匹で振幅の減少がみられたが他の 3 匹では  $O_1$  および  $O_2$  振幅に有意な変化はなかった (図 15). また  $O_1$  および  $O_2$  の頂点潜時には有意な変化はなかった (図 15).

白色ウサギ 1 匹 (注入後 30 週目) (図 16) および有色ウサギ 1 匹 (注入後 31 週目) において記録した VEP には, 対照眼刺激と LFLX 注入眼刺激との間で有意差はなかった.

注入後 13 週目に有色ウサギ 1 匹に対して行った眼底撮影および蛍光眼底造影において, 対照眼に比し LFLX 注入眼に異常所見はみられなかった.

白色ウサギ 1 匹 (注入後 13 週目) および有色ウサギ 2 匹 (注入後 4 および 31 週目) より採取した網膜の組織学的所見には明らかな異常はなかった.

4. LFLX 1000 µg 硝子体内注入 (硝子体内濃度約 590 µg/ml) (白色ウサギ 1 匹および有色ウサギ 2 匹)

a 波振幅は白色ウサギにおいて注入後 3 時間から 2 日目まで約 70% に減少したが, 有色ウサギ 1 匹においては注入後 3 時間から 2 日目まで約 125% と軽度増大した (図 12). いずれの変化も注入後 2 週目以降には回復した (図 12). b 波振幅は有色ウ

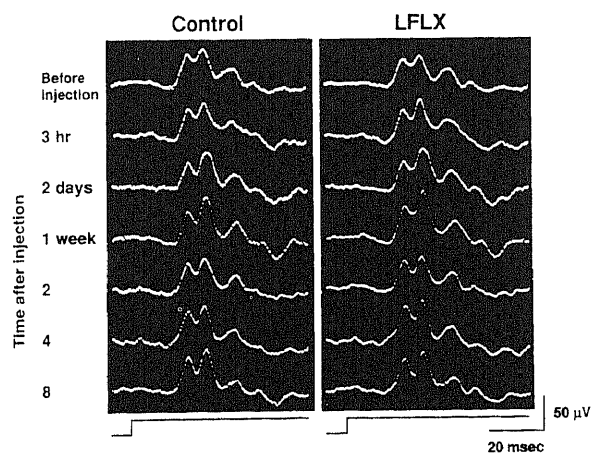


Fig. 9. Effects of an intravitreal injection of 200 µg LFLX on the oscillatory potential of a pigmented rabbit. The oscillatory potential was not deteriorated. Each trace shows the averaged waveform of 10 responses. Time constant, 3 msec. Stimulus intensity was  $5 \times 10^4$  lux at the cornea. Stimulus frequency and duration were 1/3 Hz and 500 msec, respectively. For other recording parameters see the legend for Fig. 8.



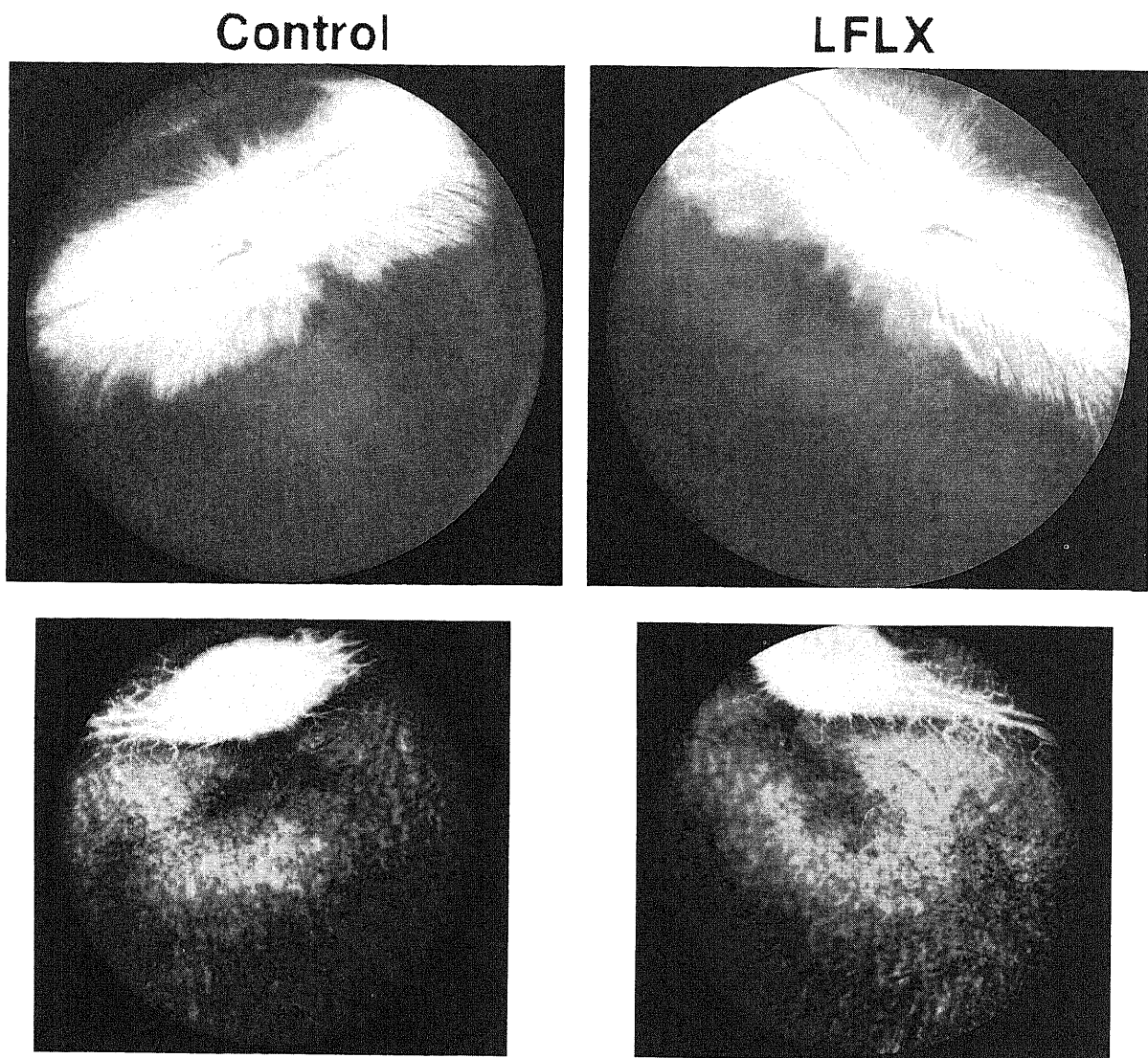


Fig. 10. Fundus photographs and fluorescein fundus angiograms 15 weeks after an intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX in a pigmented rabbit. Top left and bottom left, fundus photograph and fluorescein fundus angiogram, respectively, of the control fellow eye after an injection of intraocular infusion fluid only. Top right and bottom right, fundus photograph and fluorescein fundus angiogram, respectively, of the LFLX-injected eye. No abnormal changes were observed in the LFLX-injected eye.

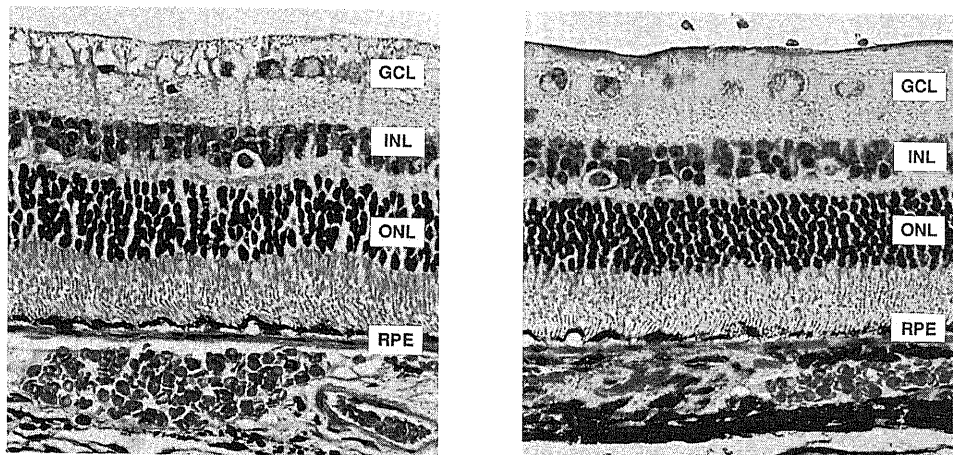


Fig. 11. Light micrographs of the retina of a pigmented rabbit 4 weeks after an intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX. Left, the retina of the control eye. Right, the retina of the LFLX-injected eye. No abnormal changes were observed in the retinal histology. Other conditions were the same as in Fig. 7.



サギ 1 匹において注入後 3 時間目に約 125% と軽度が増大したが、白色ウサギでは有意な変化はなかった (図 13, 17). c 波振幅は白色ウサギにおいて注入後 3 時間で約 40% に減少した (図 17) が、有色ウサギでは c 波振幅に有意な変化はなかった (図 14). OP の  $O_1$  および  $O_2$  にはほぼ同様の傾向がみられた. すなわち注入後 3 時間目に白色ウサギ 1 匹 (図 18) および有色ウサギ 1 匹で約 60~70% へと  $O_1$  および  $O_2$  振幅の減少がみられたが、その変化は注入後 1 週目以降には回復した (図 15). また  $O_1$  および  $O_2$  の頂点潜時には有意な変化はなかった (図 15).

注入後 16 週目に白色ウサギにおいて記録した VEP には、対照眼刺激と LFLX 注入眼刺激との間で有意差はなかった.

注入後 10 週目に有色ウサギ 1 匹に対して行った眼底撮影および蛍光眼底造影において、対照眼に比し LFLX 注入眼に異常所見はみられなかった (図 19).

有色ウサギ 1 匹 (注入後 4 週目) より採取した網膜の組織学的所見には明らかな異常はなかったが、白色ウサギ (注入後 16 週目) の網膜の組織学的所見では一部の網膜に限局した変性像が認められた (図 20).

#### 5. 点眼用基剤硝子体内注入 (白色ウサギ 2 匹および有色ウサギ 2 匹)

白色ウサギ 2 匹および有色ウサギ 2 匹において、対照眼に比し点眼用基剤注入眼の a 波、b 波および OP の振幅ならびに頂点潜時には有意な変化はなかった (図 21~23). また c 波振幅についても点眼用基剤注入眼に有意な変化はなかった (図 24). 白色ウサギ 2 匹 (注入後 4 週目) で記録した VEP においても対照眼刺激と点眼用基剤注入眼刺激との間で有意差はなかった.

注入後 9 週目に採取した有色ウサギ網膜の組織学的所見に明らかな異常はみられなかった.

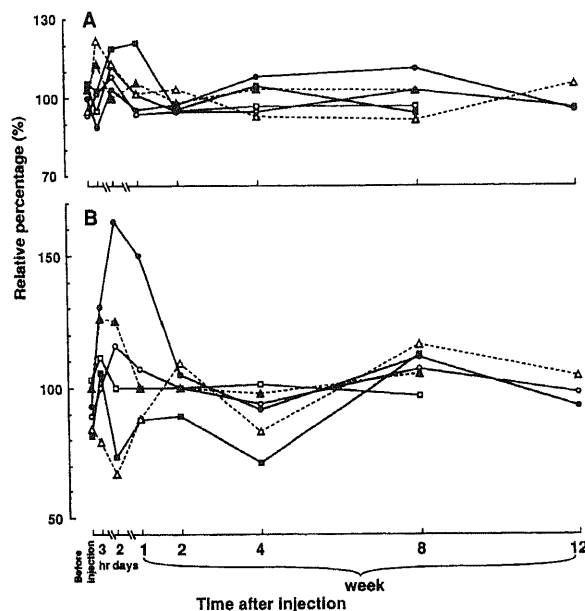


Fig. 12. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the a-wave induced by an intravitreal injection of 500 or 1000  $\mu$ g LFLX in albino and pigmented rabbits. Solid and broken lines indicate the changes by 500 and 1000  $\mu$ g LFLX injection, respectively. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 13, 14 and 15. Other conditions were the same as in Fig. 2.

#### II. 硝子体内注入後の眼内動態

白色ウサギの両眼への LFLX 200  $\mu$ g 硝子体内注入後の眼内および血清中 LFLX 濃度の測定値を表 3 に示す. 硝子体内の LFLX 濃度は、硝子体内注入 6 時間後で  $18.473 \pm 3.417$  (平均値  $\pm$  標準偏差, 以下同様)  $\mu$ g/ml, 12 時間後で  $2.799 \pm 0.580$   $\mu$ g/ml, 24 時間後で  $0.172 \pm 0.023$   $\mu$ g/ml, 48 時間後で  $0.026 \pm 0.011$   $\mu$ g/ml, 72 時間後で  $0.088 \pm 0.018$   $\mu$ g/ml, 96 時間後で  $0.041 \pm 0.038$   $\mu$ g/ml と、注入後 24 時間まではほぼ指数関数的に減少したが、その後は減少速度が低下し 96 時間後においても硝子体内

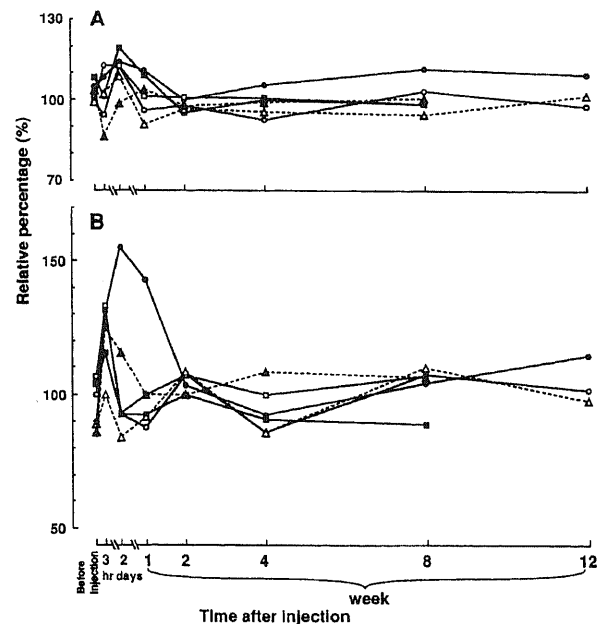


Fig. 13. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the b-wave induced by an intravitreal injection of 500 or 1000  $\mu$ g LFLX in albino and pigmented rabbits. Solid and broken lines indicate the changes by 500 and 1000  $\mu$ g LFLX injection, respectively. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 12, 14 and 15. Other conditions were the same as in Figs. 2 and 3.

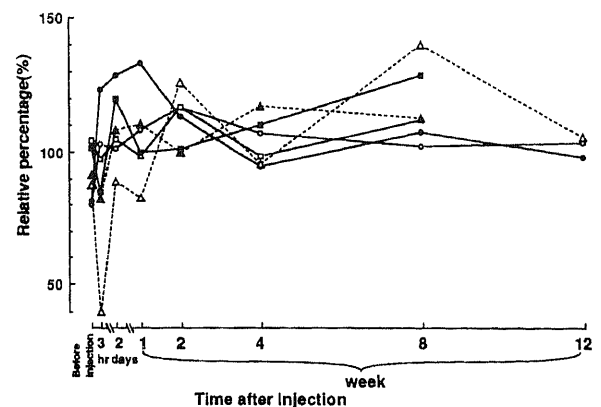


Fig. 14. Changes of the amplitude of the c-wave induced by an intravitreal injection of 500 or 1000  $\mu$ g LFLX in albino and pigmented rabbits. Solid and broken lines indicate the changes by 500 and 1000  $\mu$ g LFLX injection, respectively. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 12, 13 and 15. Other conditions were the same as in Figs. 2 and 5.

に LFLX が検出された (図25). 注入後24時間までの硝子体内半減期は約2.8時間であった (図26). 角膜 (図27), 水晶体 (図28), 前房水 (図29), 虹彩毛様体 (図30) および網脈絡膜 (図31) 内の LFLX 濃度についても硝子体内濃度とほぼ同様の推移がみられた. すなわち各組織において硝子体内注入後24ないし48時間まで LFLX 濃度はほぼ指数関数的に減少したが, その後は緩やかに減少し注入96時間後においても各組織内に LFLX が検出された. 血清中の LFLX 濃度は注入48時間後に  $0.100\mu\text{g/ml}$  (平均値) と最高値を示したが, いずれの測定時点においても LFLX 濃度は極めて低かった.

白色ウサギの片眼への LFLX  $200\mu\text{g}$  硝子体内注入後の注入眼および非注入眼 (僚眼) における眼内および血清中 LFLX 濃度の測定値を表4に示す. LFLX 注入眼の硝子体内 LFLX 濃

度は, 注入6時間後で  $14.879$  (2眼の平均値, 以下同様)  $\mu\text{g/ml}$ , 12時間後で  $2.001\mu\text{g/ml}$ , 24時間後で  $0.088\mu\text{g/ml}$ , 48時間後で  $0.024\mu\text{g/ml}$ , 72時間後で  $0.013\mu\text{g/ml}$ , 96時間後で  $0.010\mu\text{g/ml}$  であり, 各測定時点において白色ウサギの両眼への硝子体内注入における測定値に比し有意差はなかった. また LFLX 非注入眼の硝子体内 LFLX 濃度は, 注入6, 12および24時間後で0 (2眼の平均値, 以下同様), 48時間後で  $0.005\mu\text{g/ml}$ , 72時間後で0, 96時間後で  $0.006\mu\text{g/ml}$  であり, 非注入眼の硝子体内には LFLX は極めて微量にしか検出されなかった. 前房水, 水晶体, 虹彩毛様体および網脈絡膜においても硝子体とほぼ同様の結果が得られたが, 角膜では注入後24~72時間において注入眼に匹敵あるいはそれを凌駕する濃度の LFLX が非注入眼において検出された. 血清中には注入後6時間に

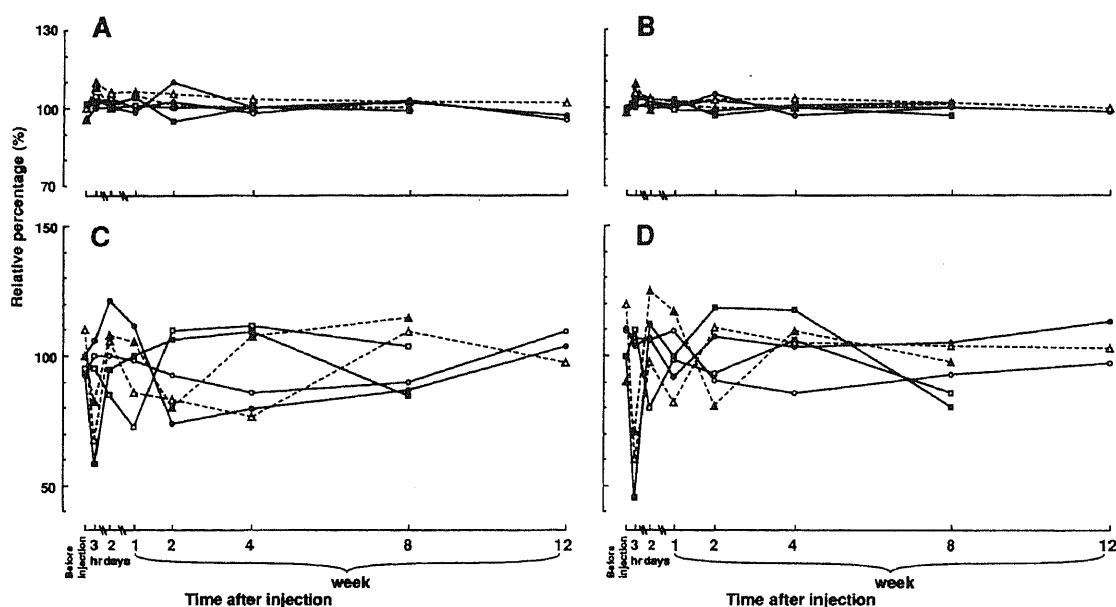


Fig. 15. Changes of the latency (A, B) and amplitude (C, D) of the oscillatory potential ( $O_1$ ; A, C;  $O_2$ ; B, D) induced by an intravitreal injection of 500 or 1000  $\mu\text{g}$  LFLX in albino and pinmented rabbits. Solid and broken lines indicate the changes by 500 and 1000  $\mu\text{g}$  LFLX injection, respectively. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 12, 13 and 14. Other conditions were the same as in Figs. 2 and 4.

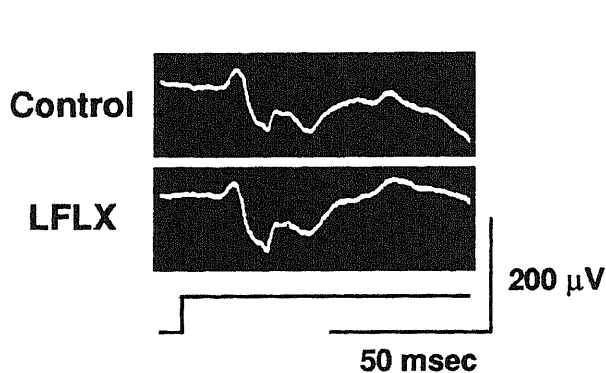


Fig. 16. Effects of an intravitreal injection of 500  $\mu\text{g}$  LFLX on the VEP of an albino rabbit. The initial positive response of the VEP was unchanged 30 weeks after injection. The upper and lower traces show the responses to the stimulation of the control eye and LFLX-injected eye, respectively. Other conditions were the same as in Fig. 6.

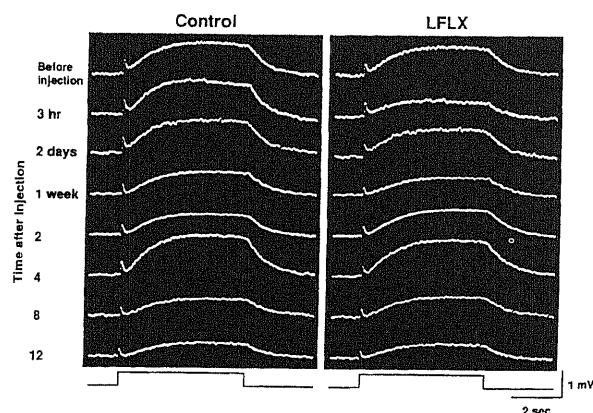
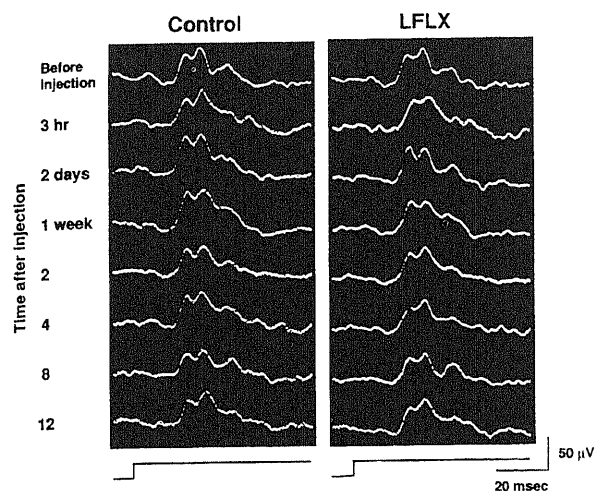


Fig. 17. Effects of an intravitreal injection of 1000  $\mu\text{g}$  LFLX on the ERG of an albino rabbit. The b-wave was not deteriorated throughout the follow-up period up to 12 weeks. The amplitude of the c-wave was significantly decreased 3 hr after injection. For other recording parameters see the legend for Fig. 8.



0.009 $\mu$ g/ml の LFLX が検出されたが、注入後12時間以降では LFLX は検出されなかった。

有色ウサギの両眼への LFLX 200 $\mu$ g 硝子体内注入後の眼内および血清中 LFLX 濃度の測定値を表5に示す。硝子体内の LFLX 濃度は、硝子体内注入6時間後で  $18.075 \pm 4.225$  (平均値  $\pm$  標準偏差, 以下同様)  $\mu$ g/ml, 12時間後で  $3.306 \pm 0.149$   $\mu$ g/ml, 24時間後で  $0.268 \pm 0.088$   $\mu$ g/ml, 48時間後で  $0.063 \pm 0.013$   $\mu$ g/ml, 72時間後で  $0.035 \pm 0.028$   $\mu$ g/ml, 96時間後で

Fig. 18. Effects of an intravitreal injection of 1000  $\mu$ g LFLX on the oscillatory potential of an albino rabbit. The amplitude of the oscillatory potential was significantly decreased 3 hr after injection. The oscillatory potential recovered within 8 weeks. For other recording parameters see the legend for Figs. 8 and 9.

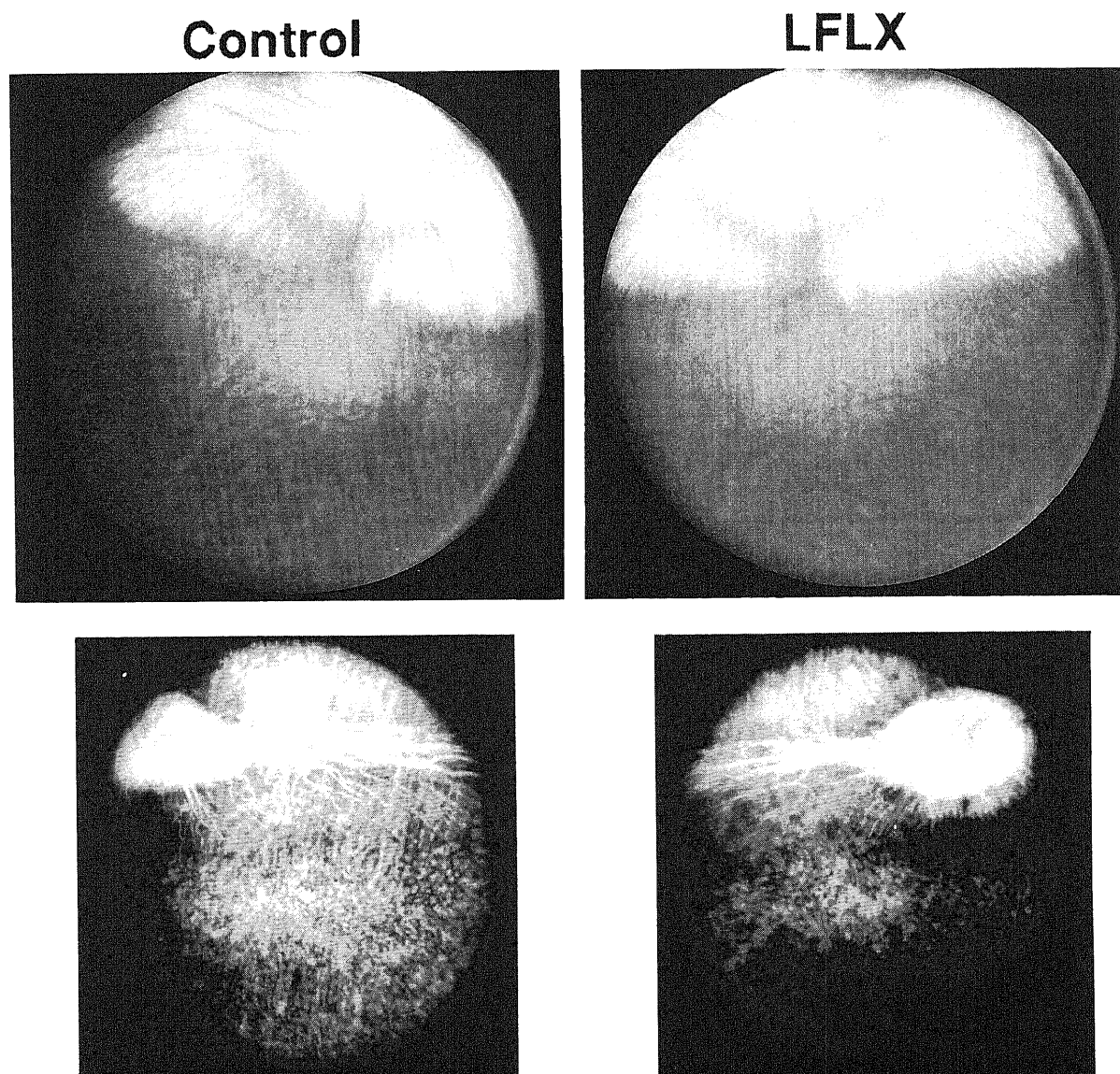


Fig. 19. Fundus photographs and fluorescein fundus angiograms 10 weeks after an intravitreal injection of 1000  $\mu$ g LFLX in a pigmented rabbit. Top left and bottom left, fundus photograph and fluorescein fundus angiogram, respectively, of the control fellow eye after an injection of intraocular infusion fluid only. Top right and bottom right, fundus photograph and fluorescein fundus angiogram, respectively, of the LFLX-injected eye. No abnormal changes were observed in the LFLX-injected eye.

$0.010 \pm 0.002 \mu\text{g/ml}$  と、各測定時点で白色ウサギにおける硝子体内濃度に近似していた。また濃度推移についても白色ウサギと同様であり、注入後24時間まで硝子体内 LFLX 濃度はほぼ指数関数的に減少したがその後は減少速度が低下した (図25)。注入後24時間までの硝子体内半減期は約3.1時間であった (図32)。角膜 (図27)、水晶体 (図28) および前房水 (図29) 内の LFLX 濃度およびその推移についても白色ウサギにおける各

組織内のそれに近似していた。これに対し虹彩毛様体および網脈絡膜内の LFLX 濃度とその推移は、有色ウサギと白色ウサギでは明らかに異なっていた。すなわち注入後12時間以降のすべての測定時点において、虹彩毛様体 (図30) および網脈絡膜 (図31) 内の LFLX 濃度は有色ウサギでは白色ウサギに比して有意に高かった。また注入96時間後においても虹彩毛様体では  $2.51 \pm 1.38 \mu\text{g/g}$  組織、網脈絡膜では  $1.33 \pm 0.61 \mu\text{g/g}$  組織と高

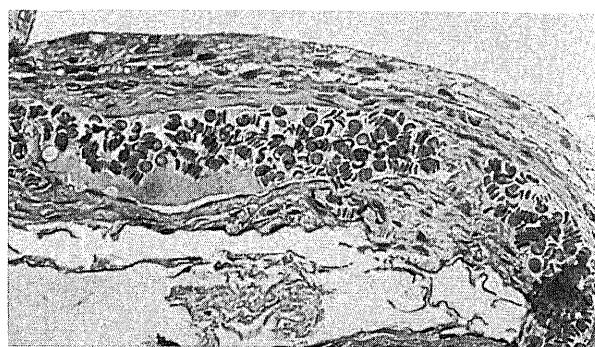
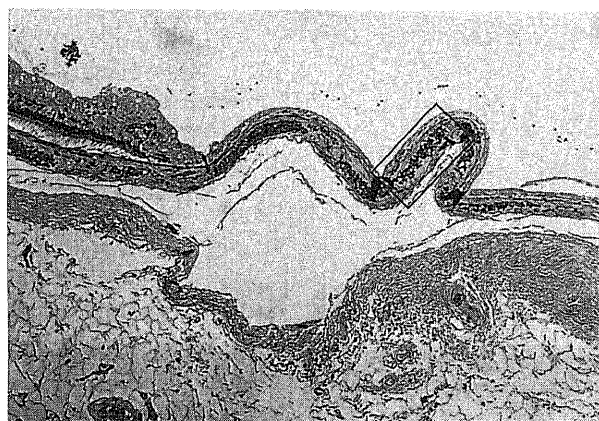


Fig. 20. Light micrographs of the retina of an albino rabbit 16 weeks after an intravitreal injection of  $1000 \mu\text{g}$  LFLX. Left, focal degeneration was observed in the retina of the LFLX-injected eye (magnification,  $\times 40$ ). Right, high magnification of the area enclosed with a square in the left photograph (magnification,  $\times 200$ ). Other conditions were the same as in Fig. 7.

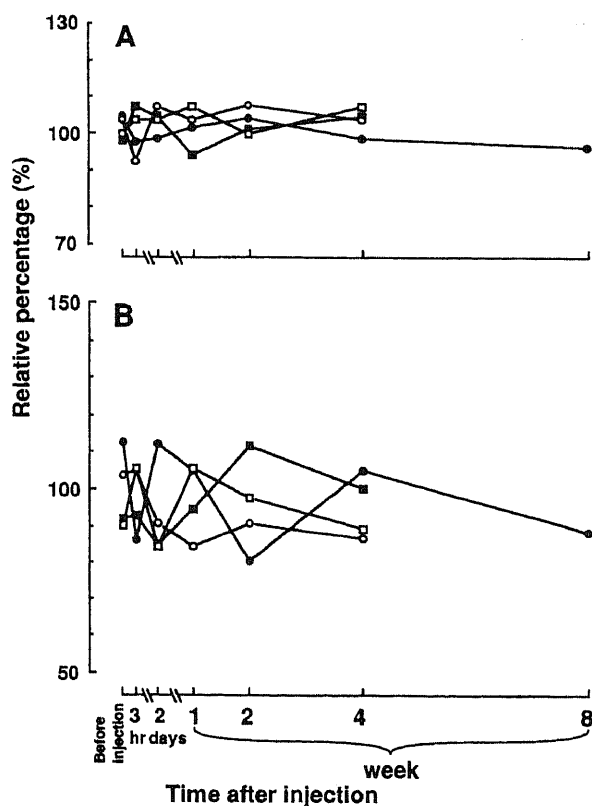


Fig. 21. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the a-wave induced by an intravitreal injection of the vehicle for ophthalmic solution in albino and pigmented rabbits. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 22, 23 and 24. Other conditions were the same as in Fig. 2.

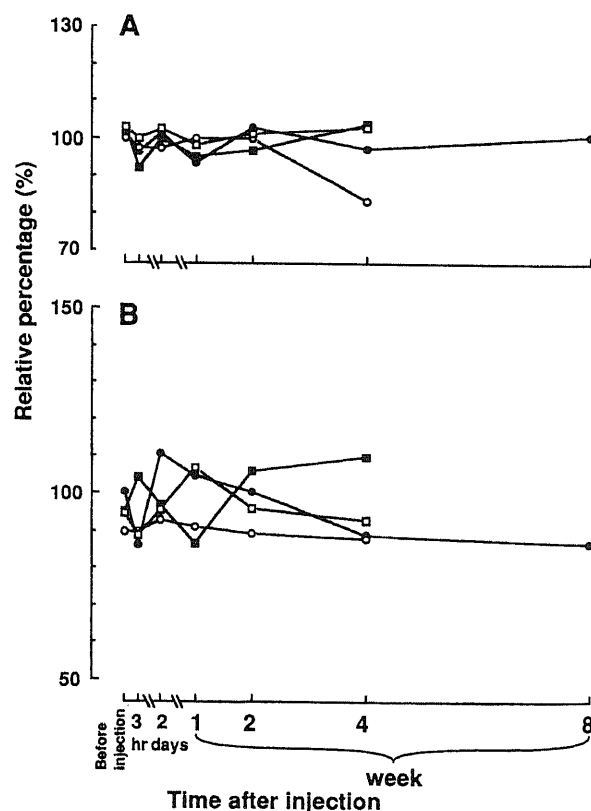


Fig. 22. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the b-wave induced by an intravitreal injection of the vehicle for ophthalmic solution in albino and pigmented rabbits. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 21, 23 and 24. Other conditions were the same as in Figs. 2 and 3.

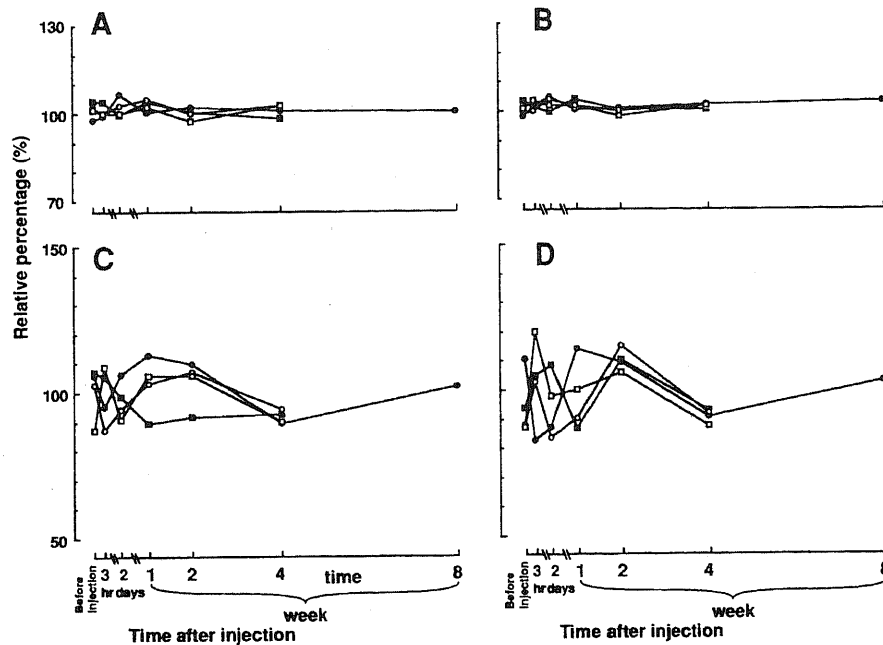


Fig. 23. Changes of the latency (A, B) and amplitude (C, D) of the oscillatory potential ( $O_1$ ; A, C:  $O_2$ ; B, D) induced by an intravitreal injection of the vehicle for ophthalmic solution in albino and pigmented rabbits. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 21, 22 and 24. Other conditions were the same as in Figs. 2 and 4.

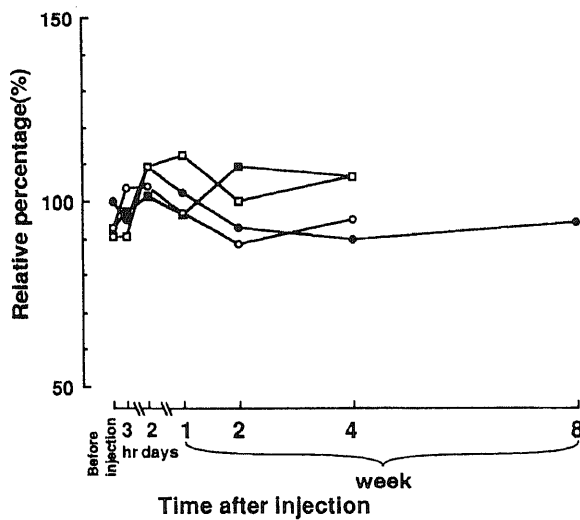


Fig. 24. Changes of the amplitude of the c-wave induced by an intravitreal injection of the vehicle for ophthalmic solution in albino and pigmented rabbits. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 21, 22 and 23. Other conditions were the same as in Figs. 2 and 5.

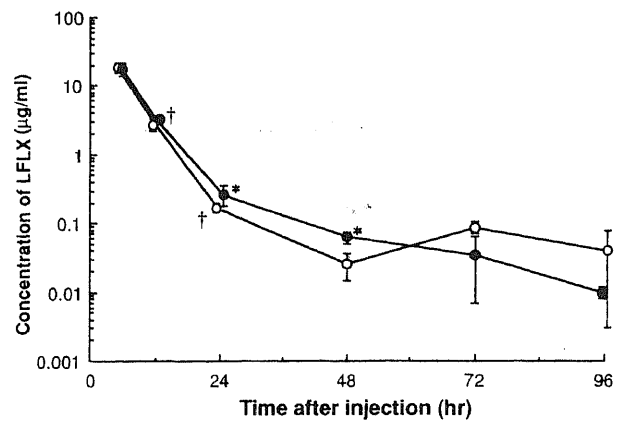


Fig. 25. Concentration of LFLX in the vitreous humor of albino and pigmented rabbits 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hr after bilateral intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX. Each data point shows the mean  $\pm$  SD.  $\circ$ , albino rabbit.  $\bullet$ , pigmented rabbit. \*,  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group. †, Error bars are smaller than the circles denoting the mean.

Table 3. Concentration of LFLX in ocular tissues and serum after a bilateral intravitreal injection of 200  $\mu$ g of LFLX in albino rabbits

Time after injection (hr)	Concentration of LFLX (mean $\pm$ SD, $\mu$ g/ml or $\mu$ g/g tissue)						
	Cornea	Lens	Aqueous	Vitreous	Iris-ciliary body	Choroid-retina	Serum
6	3.80 $\pm$ 2.03 (4) <sup>a</sup>	10.295 $\pm$ 1.367 (4)	0.878 $\pm$ 0.700 (3)	18.473 $\pm$ 3.417 (4)	11.36 $\pm$ 1.68 (4)	34.96 $\pm$ 19.96 (4)	0.032 (1)
12	2.29 $\pm$ 0.67 (4)	5.069 $\pm$ 0.575 (4)	0.487 $\pm$ 0.218 (4)	2.799 $\pm$ 0.580 (4)	2.97 $\pm$ 1.04 (4)	5.11 $\pm$ 0.66 (4)	0.037 (2)
24	0.63 $\pm$ 0.14 (4)	2.700 $\pm$ 0.401 (4)	0.128 (2)	0.172 $\pm$ 0.023 (3)	0.36 $\pm$ 0.14 (4)	0.64 $\pm$ 0.22 (3)	0.024 (2)
48	0.30 $\pm$ 0.12 (4)	1.343 $\pm$ 0.417 (4)	0.059 $\pm$ 0.011 (3)	0.026 $\pm$ 0.011 (4)	0.13 $\pm$ 0.04 (4)	1.09 $\pm$ 0.47 (4)	0.100 (2)
72	0.14 $\pm$ 0.05 (3)	1.430 $\pm$ 0.773 (4)	0.035 (2)	0.088 $\pm$ 0.018 (3)	0.09 $\pm$ 0.03 (3)	0.60 $\pm$ 0.07 (3)	0.032 (2)
96	0.07 $\pm$ 0.03 (4)	0.435 $\pm$ 0.193 (4)	0.008 $\pm$ 0.002 (4)	0.041 $\pm$ 0.038 (4)	0.03 $\pm$ 0.04 (4)	0.04 $\pm$ 0.08 (4)	0.003 (2)

<sup>a</sup> Number of eyes tested.

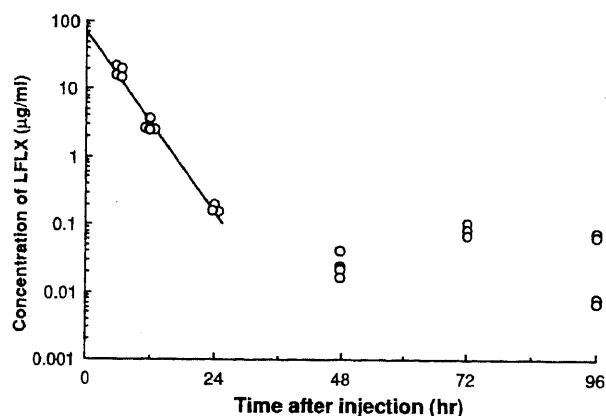


Fig. 26. Intravitreal concentration of LFLX 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hr after bilateral intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX in albino rabbits. The straight line indicates a least squares regression line obtained from the data at 6, 12 and 24 hr after injection in an exponential decay model.

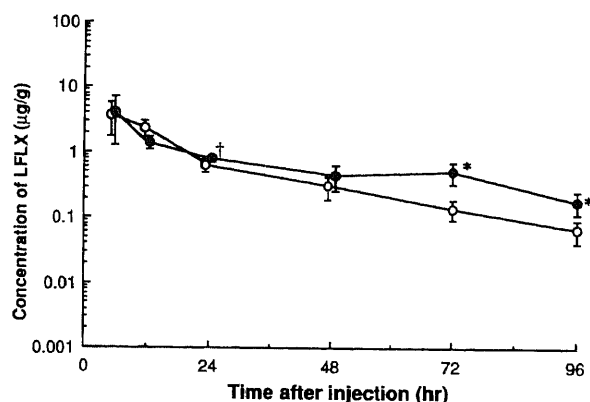


Fig. 27. Concentration of LFLX in the cornea of albino and pigmented rabbits 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hr after bilateral intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX. Each data point shows the mean  $\pm$  SD.  $\circ$ , albino rabbit.  $\bullet$ , pigmented rabbit. \*,  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group.  $\dagger$ , Error bars are smaller than the circles denoting the mean.

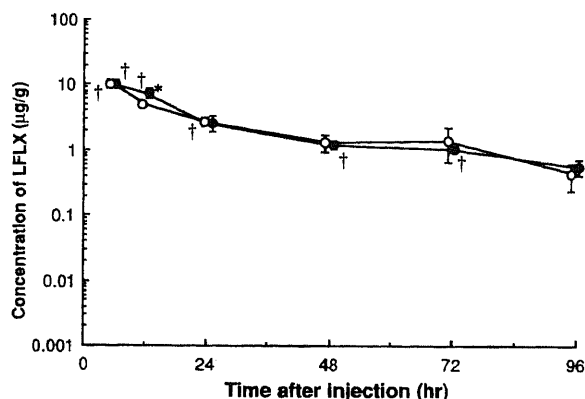


Fig. 28. Concentration of LFLX in the lens of albino and pigmented rabbits 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hr after bilateral intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX. Each data point shows the mean  $\pm$  SD.  $\circ$ , albino rabbit.  $\bullet$ , pigmented rabbit. \*,  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group.  $\dagger$ , Error bars are smaller than the circles denoting the mean.

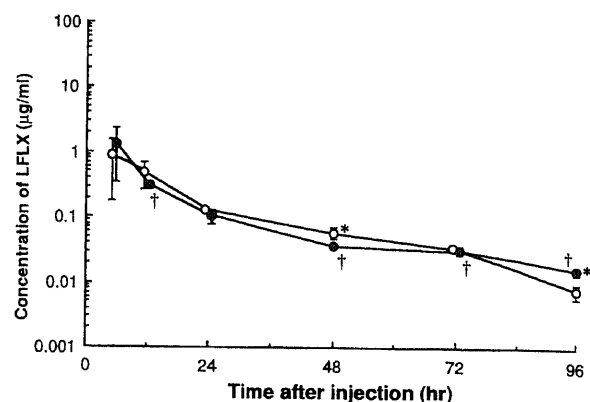


Fig. 29. Concentration of LFLX in the aqueous humor of albino and pigmented rabbits 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hr after bilateral intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX. Each data point shows the mean  $\pm$  SD or the mean only.  $\circ$ , albino rabbit.  $\bullet$ , pigmented rabbit. \*,  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group.  $\dagger$ , Error bars are smaller than the circles denoting the mean.

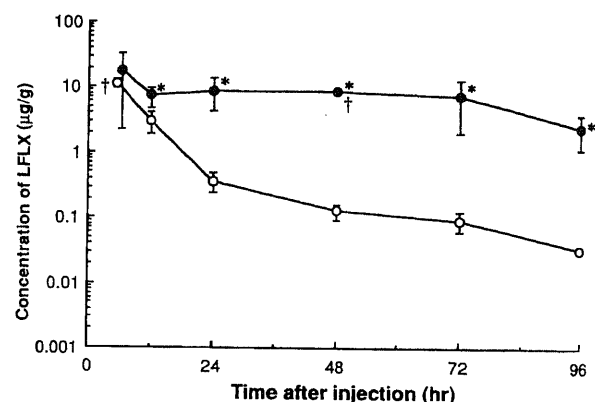


Fig. 30. Concentration of LFLX in the iris-ciliary body of albino and pigmented rabbits 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hr after bilateral intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX. Each data point shows the mean  $\pm$  SD or the mean only.  $\circ$ , albino rabbit.  $\bullet$ , pigmented rabbit. \*,  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group.  $\dagger$ , Error bars are smaller than the circles denoting the mean.

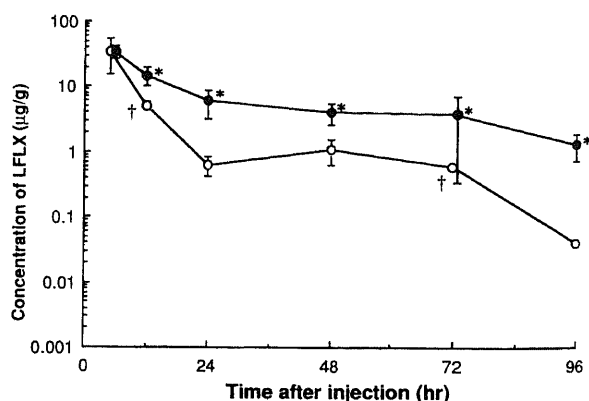


Fig. 31. Concentration of LFLX in the choroid-retina of albino and pigmented rabbits 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hr after bilateral intravitreal injection of 200  $\mu$ g LFLX. Each data point shows the mean  $\pm$  SD or the mean only.  $\circ$ , albino rabbit.  $\bullet$ , pigmented rabbit. \*,  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group.  $\dagger$ , Error bars are smaller than the circles denoting the mean.



い濃度の LFLX が検出された。血清中の LFLX 濃度は全経過中において  $0.036\mu\text{g/ml}$  以下と極めて低かった。

LFLX の硝子体内濃度に対する前房水内濃度の比 (百分率) は、白色ウサギにおいては硝子体内注入 6 時間後で  $5.5\pm 4.8\%$  (平均値  $\pm$  標準偏差, 以下同様), 12 時間後で  $17.0\pm 4.9\%$ , 24 時間後で  $74.4\%$ , 48 時間後で  $242.0\pm 89.7\%$ , 72 時間後で  $36.7\%$ , 96 時間後で  $50.6\pm 43.8\%$  であり, 注入後の時間経過とともに増大し, 注入 48 時間後で前房水内 LFLX 濃度が硝子体内 LFLX

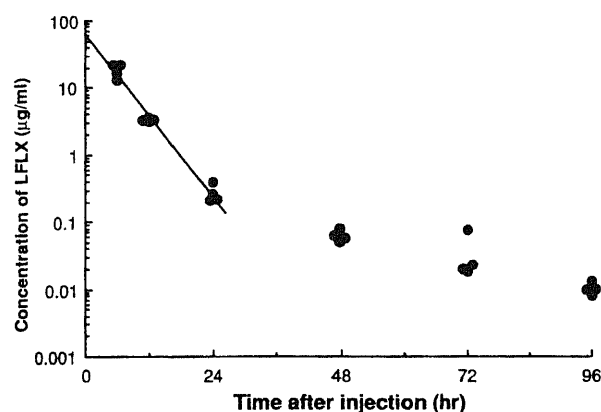


Fig. 32. Intravitreal concentration of LFLX 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hr after bilateral intravitreal injection of  $200\mu\text{g}$  LFLX in pigmented rabbits. The straight line indicates a least squares regression line obtained from the data at 6, 12 and 24 hr after injection in an exponential decay model.

濃度を一時的に凌駕した (表 6)。また有色ウサギにおいては硝子体内注入 6 時間後で  $7.5\pm 4.9\%$ , 12 時間後で  $9.2\pm 0.4\%$ , 24 時間後で  $39.9\pm 3.3\%$ , 48 時間後で  $59.2\pm 9.5\%$ , 72 時間後で  $127.7\pm 62.9\%$ , 96 時間後で  $160.1\pm 47.0\%$  であり, 注入後の時間経過とともに増大し, 注入 72 時間後で前房水内 LFLX 濃度が硝子体内 LFLX 濃度を凌駕した (表 6)。さらにその後も硝子体内濃度に対する前房水内濃度の比 (百分率) の増大傾向がみられた (表 6)。

### Ⅲ. 全身投与による眼内移行および硝子体切除術の影響

#### 1. 1 時間群 (表 7)

LFLX  $20\text{mg/kg}$  経口投与 1 時間後の血清中の LFLX 濃度の平均値  $\pm$  標準偏差は、白色および有色ウサギ全体でそれぞれ  $0.419\pm 0.294\mu\text{g/ml}$  および  $2.577\pm 2.296\mu\text{g/ml}$  であった。

白色ウサギにおける硝子体内 LFLX 濃度は硝子体非切除眼で  $0.035\pm 0.022\mu\text{g/ml}$  (平均値  $\pm$  標準偏差, 以下同様), 硝子体切除術後 1 日目で  $0.063\pm 0.049\mu\text{g/ml}$  および硝子体切除術後 1 週目で  $0.026\pm 0.012\mu\text{g/ml}$  であり, これら 3 者間で LFLX 濃度に有意差はなかった。有色ウサギにおける硝子体内 LFLX 濃度は硝子体非切除眼で  $0.118\pm 0.073\mu\text{g/ml}$ , 硝子体切除術後 1 日目で  $0.112\pm 0.093\mu\text{g/ml}$  および硝子体切除術後 1 週目で  $0.030\pm 0.025\mu\text{g/ml}$  であり, これら 3 者間で LFLX 濃度に有意差はなかった。また硝子体非切除眼, 硝子体切除術後 1 日目および 1 週目のそれぞれの時点において硝子体内 LFLX 濃度には白色ウサギと有色ウサギとの間で有意差はなかった。角膜, 水晶体および前房水内の LFLX 濃度についても上記の硝子体内 LFLX 濃度とはほぼ同様の傾向がみられた。すなわち角膜, 水晶体および前房水において白色ウサギと有色ウサギとの間に

Table 4. Concentration of LFLX in ocular tissues and serum after a unilateral intravitreal injection of  $200\mu\text{g}$  of LFLX in albino rabbits

Injection of LFLX	Time after injection (hr)	Concentration of LFLX (mean, $\mu\text{g/ml}$ or $\mu\text{g/g}$ tissue)						
		Cornea	Lens	Aqueous	Vitreous	Iris-ciliary body	Choroid-retina	Serum
Injected	6	2.26 (2) <sup>a</sup>	11.021 (2)	0.568 (2)	14.879 (2)	3.56 (2)	15.50 (2)	0.009 (2)
	12	1.12 (2)	8.269 (2)	0.412 (2)	2.001 (2)	1.36 (2)	3.00 (2)	0 (2)
	24	0.31 (2)	2.055 (2)	0.093 (2)	0.088 (2)	0.26 (2)	1.19 (2)	0 (2)
	48	0.09 (2)	1.112 (2)	0.079 (2)	0.024 (2)	0.12 (2)	0.26 (1)	0 (2)
	72	0.06 (2)	0.411 (2)	0.017 (2)	0.013 (2)	0.18 (2)	0.81 (2)	0 (2)
	96	0.06 (2)	0.394 (2)	0.009 (2)	0.010 (2)	0.05 (2)	0.97 (2)	0 (2)
Non-injected (fellow eye)	6	0.23 (2)	0 (2)	0.010 (2)	0 (2)	0.07 (2)	0 (2)	0.009 (2)
	12	0.41 (2)	0 (2)	0.006 (2)	0 (2)	0.09 (2)	0 (2)	0 (2)
	24	0.50 (2)	0 (1)	0.004 (2)	0 (2)	0.10 (2)	0 (2)	0 (2)
	48	0.26 (2)	0 (2)	0.008 (2)	0.005 (2)	0 (2)	0 (1)	0 (2)
	72	0.32 (2)	0 (2)	0.008 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)
	96	0.03 (2)	0.017 (2)	0.003 (2)	0.006 (2)	0.21 (2)	1.67 (2)	0 (2)

<sup>a</sup> Number of eyes tested.

Table 5. Concentration of LFLX in ocular tissues and serum after a bilateral intravitreal injection of  $200\mu\text{g}$  of LFLX in pigmented rabbits

Time after injection (hr)	Concentration of LFLX (mean $\pm$ SD, $\mu\text{g/ml}$ or $\mu\text{g/g}$ tissue)						
	Cornea	Lens	Aqueous	Vitreous	Iris-ciliary body	Choroid-retina	Serum
6	$4.18\pm 2.92$ (4) <sup>a</sup>	$10.167\pm 1.608$ (4)	$1.320\pm 0.973$ (4)	$18.075\pm 4.225$ (4)	$11.69\pm 15.50$ (4)	$34.31\pm 8.21$ (4)	0.030 (2)
12	$1.42\pm 0.34$ (4)	$7.509\pm 1.442$ (4)	$0.306\pm 0.024$ (4)	$3.306\pm 0.149$ (4)	$7.36\pm 2.55$ (4)	$14.80\pm 4.65$ (4)	0.008 (2)
24	$0.79\pm 0.10$ (4)	$2.636\pm 0.680$ (4)	$0.105\pm 0.026$ (4)	$0.268\pm 0.088$ (4)	$8.92\pm 4.71$ (4)	$6.02\pm 2.85$ (4)	0 (2)
48	$0.45\pm 0.20$ (4)	$1.227\pm 0.200$ (4)	$0.037\pm 0.002$ (4)	$0.063\pm 0.013$ (4)	$8.77\pm 0.76$ (4)	$4.12\pm 1.51$ (4)	0.003 (2)
72	$0.51\pm 0.19$ (4)	$1.062\pm 0.093$ (4)	$0.032\pm 0.005$ (4)	$0.035\pm 0.028$ (4)	$7.44\pm 5.47$ (4)	$3.84\pm 3.49$ (4)	0.036 (1)
96	$0.18\pm 0.07$ (4)	$0.579\pm 0.155$ (4)	$0.016\pm 0.002$ (4)	$0.010\pm 0.002$ (4)	$2.51\pm 1.38$ (4)	$1.33\pm 0.61$ (4)	0 (2)

<sup>a</sup> Number of eyes tested.

LFLX 濃度の差はほとんどみられず、また硝子体非切除眼と硝子体切除術後 1 日目との間にも明らかな濃度差はなかった。

これに対し網脈絡膜内 LFLX 濃度は白色ウサギおよび有色ウサギにおいてそれぞれ硝子体非切除眼で  $0.58 \pm 0.33 \mu\text{g/g}$  組織 (平均値  $\pm$  標準偏差, 以下同様) および  $6.58 \pm 7.96 \mu\text{g/g}$  組織, 硝子体切除術後 1 日目で  $0.96 \pm 0.47 \mu\text{g/g}$  組織および  $2.82 \pm 1.42 \mu\text{g/g}$  組織, また硝子体切除術後 1 週目で  $1.05 \pm 1.11 \mu\text{g/g}$  組織および  $0.37 \pm 0.17 \mu\text{g/g}$  組織であり, 網脈絡膜内 LFLX 濃度には硝子体非切除眼と硝子体切除術後 1 日目との間で有意差はなかったが, 硝子体非切除眼および硝子体切除術

後 1 日目のそれぞれにおいて白色ウサギに比し有色ウサギで網脈絡膜内 LFLX 濃度が有意に高かった。虹彩毛様体内 LFLX 濃度についても網脈絡膜内と同様の結果であった。

## 2. 2 時間群 (表 8)

経口投与 2 時間後の血清中の LFLX 濃度の平均値  $\pm$  標準偏差は, 白色および有色ウサギ全体でそれぞれ  $1.466 \pm 0.484 \mu\text{g/ml}$  および  $2.556 \pm 1.703 \mu\text{g/ml}$  であった。

白色ウサギにおける硝子体内 LFLX 濃度は硝子体非切除眼で  $0.102 \pm 0.061 \mu\text{g/ml}$  (平均値  $\pm$  標準偏差, 以下同様), 硝子体切除術後 1 日目で  $0.122 \pm 0.068 \mu\text{g/ml}$  および硝子体切除術後 1 週目で  $0.149 \pm 0.061 \mu\text{g/ml}$  であり, これら 3 者間で LFLX 濃度に有意差はなかった。有色ウサギにおける硝子体内 LFLX 濃度は硝子体非切除眼で  $0.230 \pm 0.175 \mu\text{g/ml}$ , 硝子体切除術後 1 日目で  $0.332 \pm 0.205 \mu\text{g/ml}$  および硝子体切除術後 1 週目で  $0.222 \pm 0.225 \mu\text{g/ml}$  であり, これら 3 者間で LFLX 濃度に有意差はなかった。また硝子体非切除眼, 硝子体切除術後 1 日目および 1 週目のそれぞれの時点において硝子体内 LFLX 濃度には白色ウサギと有色ウサギとの間で有意差はなかった。角膜, 水晶体, 前房水, 強膜および視神経内の LFLX 濃度についても上記の硝子体内 LFLX 濃度とほぼ同様の傾向がみられた。すなわち角膜, 水晶体, 前房水, 強膜および視神経において硝子体非切除眼と硝子体切除眼との間で LFLX 濃度に明らかな差

Table 6. Aqueous concentration (Ca) of LFLX expressed in percentage to intravitreal concentration (Cv) at 6 different periods after intravitreal injection

Time after injection (hr)	Ca/Cv (mean $\pm$ SD, %)	
	Albino	Pigmented
6	$5.5 \pm 4.8$ (3) <sup>a</sup>	$7.5 \pm 4.9$ (4)
12	$17.0 \pm 4.9$ (4)	$9.2 \pm 0.4$ (4)
24	74.4 (2)	$39.9 \pm 3.3$ (4)
48	$242.0 \pm 89.7$ (3)	$59.2 \pm 9.5$ (4)
72	36.7 (2)	$127.7 \pm 62.9$ (4)
96	$50.6 \pm 43.8$ (4)	$160.1 \pm 47.0$ (4)

<sup>a</sup> Number of eyes tested.

Table 7. Concentration of LFLX in ocular tissues and serum 1 hr after an oral administration of 20 mg/kg LFLX

Ocular tissue	LFLX concentration (mean $\pm$ SD, $\mu\text{g/ml}$ or $\mu\text{g/g}$ tissue)					
	Non-vitrectomized eye		Vitrectomized eye			
			1 day after vitrectomy		1 week after vitrectomy	
	Albino	Pigmented	Albino	Pigmented	Albino	Pigmented
Cornea	$0.22 \pm 0.07$ (4) <sup>a</sup>	$0.41 \pm 0.13$ (3)	$0.27 \pm 0.04$ (4)	$0.46 \pm 0.23$ (3)*	$0.35 \pm 0.48$ (3)	$0.12 \pm 0.03$ (3) <sup>a</sup>
Lens	$0.056 \pm 0.041$ (4)	$0.118 \pm 0.161$ (3)	$0.028 \pm 0.010$ (4)	$0.071 \pm 0.041$ (5)	$0.019 \pm 0.016$ (3)	$0.038 \pm 0.051$ (3)
Aqueous	$0.067 \pm 0.010$ (4)	$0.156 \pm 0.137$ (4)	$0.093 \pm 0.019$ (4)	$0.174 \pm 0.088$ (5)	$0.021 \pm 0.020$ (3) <sup>a</sup>	$0.048 \pm 0.018$ (3) <sup>a</sup>
Vitreous	$0.035 \pm 0.022$ (4)	$0.118 \pm 0.073$ (4)	$0.063 \pm 0.049$ (4)	$0.112 \pm 0.093$ (5)	$0.026 \pm 0.012$ (3)	$0.030 \pm 0.025$ (3)
Iris-ciliary body	$0.44 \pm 0.37$ (4)	$5.04 \pm 5.02$ (4)*	$0.57 \pm 0.32$ (4)	$4.16 \pm 3.08$ (5)*	$0.24 \pm 0.21$ (3)	1.31 (2)
Choroid-retina	$0.58 \pm 0.33$ (4)	$6.58 \pm 7.96$ (4)*	$0.96 \pm 0.47$ (4)	$2.82 \pm 1.42$ (5)*	$1.05 \pm 1.11$ (3)	$0.37 \pm 0.17$ (3) <sup>a</sup>
Serum	$0.476 \pm 0.276$ (4)	$3.246 \pm 2.641$ (4)*	$0.476 \pm 0.276$ (4)	$2.883 \pm 2.427$ (4)*	$0.399 \pm 0.332$ (3)	$1.173 \pm 0.144$ (3) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Number of eyes tested.

\*  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group, <sup>a</sup>  $p < 0.05$  versus non-vitrectomized eye group, <sup>b</sup>  $p < 0.05$  versus 1-day-after-vitrectomy group.

Table 8. Concentration of LFLX in ocular tissues and serum 2 hr after an oral administration of 20 mg/kg LFLX

Ocular tissue	LFLX concentration (mean $\pm$ SD, $\mu\text{g/ml}$ or $\mu\text{g/g}$ tissue)					
	Non-vitrectomized eye		Vitrectomized eye			
			1 day after vitrectomy		1 week after vitrectomy	
	Albino	Pigmented	Albino	Pigmented	Albino	Pigmented
Cornea	$0.58 \pm 0.35$ (10) <sup>a</sup>	$0.52 \pm 0.33$ (10)	$0.58 \pm 0.28$ (5)	$0.93 \pm 0.43$ (5)	$0.79 \pm 0.45$ (5)	$0.56 \pm 0.34$ (5)
Lens	$0.044 \pm 0.035$ (10)	$0.046 \pm 0.037$ (10)	$0.042 \pm 0.023$ (5)	$0.095 \pm 0.080$ (5)	$0.056 \pm 0.035$ (5)	$0.042 \pm 0.029$ (5)
Aqueous	$0.338 \pm 0.120$ (10)	$0.344 \pm 0.284$ (10)	$0.393 \pm 0.198$ (5)	$0.529 \pm 0.433$ (5)	$0.418 \pm 0.131$ (5)	$0.292 \pm 0.136$ (5)
Vitreous	$0.102 \pm 0.061$ (10)	$0.230 \pm 0.175$ (10)	$0.122 \pm 0.068$ (5)	$0.332 \pm 0.205$ (5)	$0.149 \pm 0.061$ (5)	$0.222 \pm 0.225$ (5)
Iris-ciliary body	$0.45 \pm 0.17$ (10)	$10.98 \pm 7.02$ (10)*	$0.68 \pm 0.22$ (5)	$23.99 \pm 21.10$ (5)*	$0.53 \pm 0.11$ (5)	$8.56 \pm 5.32$ (5)*
Neural retina	$0.27 \pm 0.11$ (10)	$1.37 \pm 0.88$ (10)*	$0.26 \pm 0.04$ (5)	$1.29 \pm 1.25$ (5)*	$0.34 \pm 0.07$ (5) <sup>a</sup>	$1.23 \pm 0.89$ (5)
RPE-choroid	$0.99 \pm 0.28$ (10)	$31.36 \pm 29.83$ (10)*	$1.01 \pm 0.30$ (5)	$29.06 \pm 11.70$ (5)*	$1.28 \pm 0.56$ (5)	$20.20 \pm 20.92$ (5)*
Sclera	$1.094 \pm 0.427$ (10)	$2.198 \pm 1.685$ (10)	$0.916 \pm 0.144$ (5)	$2.688 \pm 1.486$ (5)	$1.222 \pm 0.178$ (5) <sup>a</sup>	$1.775 \pm 1.297$ (5)
Optic nerve	$0.33 \pm 0.16$ (10)	$0.63 \pm 0.45$ (10)	$0.33 \pm 0.17$ (5)	$0.91 \pm 0.55$ (5)	$0.51 \pm 0.23$ (5)	$0.49 \pm 0.54$ (5)
Serum	$1.466 \pm 0.484$ (10)	$2.556 \pm 1.703$ (10)	$1.223 \pm 0.334$ (5)	$3.189 \pm 1.875$ (5)	$1.710 \pm 0.517$ (5)	$1.923 \pm 1.417$ (5)

PRE, retinal pigment epithelium.

<sup>a</sup> Number of eyes tested.

\*  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group, <sup>a</sup>  $p < 0.05$  versus 1-day-after-vitrectomy group.

はなく、また白色ウサギと有色ウサギとの間にも LFLX 濃度に有意差はなかった。

これに対し網膜色素上皮-脈絡膜内 LFLX 濃度は白色ウサギおよび有色ウサギにおいてそれぞれ硝子体非切除眼で  $0.99 \pm 0.28 \mu\text{g/g}$  組織 (平均値  $\pm$  標準偏差, 以下同様) および  $31.36 \pm 29.83 \mu\text{g/g}$  組織, 硝子体切除術後 1 日目で  $1.01 \pm 0.30 \mu\text{g/g}$  組織および  $29.06 \pm 11.70 \mu\text{g/g}$  組織, また硝子体切除術後 1 週目で  $1.28 \pm 0.56 \mu\text{g/g}$  組織および  $20.20 \pm 20.92 \mu\text{g/g}$  組織であり, 網膜色素上皮-脈絡膜内 LFLX 濃度には硝子体非切除眼と硝子体切除眼との間で有意差はなかったが, 硝子体非切除眼, 硝子体切除 1 日目および 1 週目のそれぞれの時点において白色ウサギに比し有色ウサギで網膜色素上皮-脈絡膜内 LFLX 濃度が有意に高かった。虹彩毛様体内 LFLX 濃度についても網膜色素上皮-脈絡膜内と同様の結果であった。

### 3. 血清中濃度に対する前房水および硝子体内濃度の比

全身投与された薬剤の眼内移行の指標の一つとして血清中濃度に対する前房水内濃度の比 (房血比) が用いられる<sup>33)</sup>。本実験における LFLX 経口投与 1 時間後の房血比 (百分率) の平均値は, 白色ウサギおよび有色ウサギにおいてそれぞれ硝子体非切除眼で 18.3% および 4.8%, 硝子体切除術後 1 日目で 23.7% および 8.0%, また硝子体切除術後 1 週目で 3.6% および 4.0% であり, 硝子体非切除眼および硝子体切除術後 1 日目において白色ウサギに比し有色ウサギで有意に低かった (表 9)。LFLX 経口投与 2 時間後の LFLX 濃度の房血比 (百分率) の平均値は, 白色ウサギおよび有色ウサギにおいてそれぞれ硝子体非切除眼で 24.5% および 13.5%, 硝子体切除術後 1 日目で 33.6% および 15.6%, また硝子体切除術後 1 週目で 24.7% および 17.6% であり, 硝子体非切除眼, 硝子体切除術後 1 日目および 1 週目のすべての時点において白色ウサギに比し有色ウサギで有意に低

かった。有色ウサギにおける LFLX 濃度の房血比は硝子体非切除眼および硝子体切除術後 1 週目において経口投与 1 時間後に比し 2 時間後で有意に高かった (表 9)。

LFLX 経口投与 1 時間後における血清中濃度に対する硝子体内濃度の比 (百分率) の平均値は, 白色ウサギおよび有色ウサギにおいてそれぞれ硝子体非切除眼で 11.9% および 4.1%, 硝子体切除術後 1 日目で 17.6% および 4.1%, また硝子体切除術後 1 週目で 31.2% および 2.7% であり, 硝子体非切除眼, 硝子体切除眼ともに白色ウサギに比し有色ウサギで低い傾向にあった (表 10)。LFLX 経口投与 2 時間後における血清中濃度に対する硝子体内濃度の比 (百分率) の平均値は, 白色ウサギおよび有色ウサギにおいてそれぞれ硝子体非切除眼で 6.9% および 8.6%, 硝子体切除術後 1 日目で 11.7% および 10.1%, また硝子体切除術後 1 週目で 8.9% および 10.3% であり硝子体非切除眼, 硝子体切除眼ともに白色ウサギと有色ウサギで同程度であった。有色ウサギにおける血清中 LFLX 濃度に対する硝子体内 LFLX 濃度の比は硝子体非切除眼および硝子体切除術後 1 日目において経口投与 1 時間後に比し 2 時間後で有意に高かった (表 10)。

## 考 察

細菌性眼内炎の治療に際して抗菌剤の硝子体内注入や硝子体切除術時の眼内灌流液への抗菌剤添加などを行う場合の網膜に対して毒性を来さない安全な硝子体内投与量は, Peyman ら<sup>34)35)</sup>, Forster ら<sup>1)</sup>, Zachary ら<sup>32)</sup> および D'Amico ら<sup>36)37)</sup>をはじめとして数多くの研究者<sup>1)32)34)~42)</sup>により検討されてきたが, いまだに十分確立されていないのが現状である。なかでもフルオロキノロン剤については近年になってその開発がめざましく進んだ系統の抗菌剤であることから, その硝子体内投与に関する安

Table 9. Aqueous concentration (Ca) of LFLX expressed in percentage to serum concentration (Cs) 1 or 2 hr after an oral administration of 20 mg/kg LFLX in non-vitrectomized and vitrectomized eyes

Time after administration (hr)	Ca/Cs (mean $\pm$ SD, %)					
	Non-vitrectomized eye		Vitrectomized eye			
	Albino	Pigmented	1 day after vitrectomy		1 week after vitrectomy	
			Albino	Pigmented	Albino	Pigmented
1	18.3 $\pm$ 11.9 (4) <sup>a</sup> *	4.8 $\pm$ 1.3 (4) <sup>†</sup>	23.7 $\pm$ 10.5 (4) <sup>*</sup>	8.0 $\pm$ 5.0 (5) <sup>†</sup>	3.6 $\pm$ 3.3 (3)	4.0 $\pm$ 1.0 (3)
2	24.5 $\pm$ 10.9 (10)	13.5 $\pm$ 4.9 (10) <sup>‡</sup>	33.6 $\pm$ 16.8 (5)	15.6 $\pm$ 7.3 (5) <sup>†</sup>	24.7 $\pm$ 2.9 (5) <sup>†</sup>	17.6 $\pm$ 5.5 (5) <sup>‡</sup>

<sup>a</sup> Number of eyes tested.

\*  $p < 0.05$  versus 1-week-after-vitrectomy group, <sup>†</sup>  $p < 0.05$  versus albino-rabbit group, <sup>‡</sup>  $p < 0.05$  versus 1-hour-after-administration group.

Table 10. Intravitreal concentration (Cv) of LFLX expressed in percentage to serum concentration (Cs) 1 or 2 hr after an oral administration of 20 mg/kg LFLX in non-vitrectomized and vitrectomized eyes

Time after administration (hr)	Cv/Cs (mean $\pm$ SD, %)					
	Non-vitrectomized eye		Vitrectomized eye			
	Albino	Pigmented	1 day after vitrectomy		1 week after vitrectomy	
			Albino	Pigmented	Albino	Pigmented
1	11.9 $\pm$ 14.7 (4) <sup>a</sup>	4.1 $\pm$ 1.9 (4)	17.6 $\pm$ 18.2 (4)	4.1 $\pm$ 2.8 (5)	31.2 $\pm$ 44.8 (3)	2.7 $\pm$ 2.4 (3)
2	6.9 $\pm$ 2.9 (10)	8.6 $\pm$ 3.2 (10) <sup>*</sup>	11.7 $\pm$ 10.5 (5)	10.1 $\pm$ 2.8 (5) <sup>*</sup>	8.9 $\pm$ 2.9 (5)	10.3 $\pm$ 3.7 (5)

<sup>a</sup> Number of eyes tested.

\*  $p < 0.05$  versus 1-hour-after-administration group.

全性の検討は十分なされていない。そこで本研究ではフルオロキノロン剤のひとつである LFLX を選択し、硝子体内に注入した場合の網膜におよぼす影響および注入した LFLX の動態さらに全身投与した LFLX の眼内移行を検討した。

本研究によりウサギにおいて LFLX100 および 200 $\mu$ g 硝子体内注入は網膜に明らかな影響をおよぼさないことが判明した。注入した LFLX がウサギ硝子体内に均等に拡散すると仮定すると、硝子体内 LFLX 濃度は100および 200 $\mu$ g 注入でそれぞれ約59および 120 $\mu$ g/ml となる。酒井ら<sup>43)</sup>は白色ウサギにおいて網膜、脈絡膜および強膜からなる摘出眼杯を用い、ERG の a 波、b 波および OP を指標として LFLX の網膜におよぼす影響を検討した。その結果 LFLX100 $\mu$ M (35 $\mu$ g/ml) では ERG の a 波、b 波および OP に変化はなかったが、300 $\mu$ M (105 $\mu$ g/ml) では OP 振幅が選択的に減少したという。彼ら<sup>43)</sup>の成績と本研究の硝子体内注入法の成績を比較すると、ERG を変化させない LFLX 濃度は摘出眼杯灌流法に比し硝子体内注入法では約3倍であった。この成績の差異の原因としては、まず第一に摘出眼杯灌流法<sup>44)</sup>では眼杯作製時に硝子体を出来るかぎり除去しておりそのため灌流液に添加した LFLX が直接的に網膜に作用するのに対し、硝子体内注入法では硝子体が一種の衝撃吸収体 (shock absorber) として働く<sup>45)</sup> ことにより LFLX の網膜への作用が軽減されていることが考えられる。第二に摘出眼杯灌流法ではウサギ硝子体とは組成、温度ならびに pH などの異なる人工的灌流液に眼杯が常に浸漬されており<sup>46)</sup>、加えて眼圧や血流が存在しない。これら摘出眼杯灌流法と硝子体内注入法における実験条件の差が実験結果の差として現れたことが推測される。両実験法における結果の差は硫酸ゲンタマイシン<sup>44)</sup> やノルフロキサシン<sup>47)</sup>などの他の抗菌剤についてもみられている。従って抗菌剤の硝子体内投与を臨床応用するための基礎実験として、本研究で用いた硝子体内注入法による検討が極めて重要であるといえる。

LFLX を硝子体内に投与した場合の安全性あるいは網膜毒性に関してはこれまで報告されていない。そこで本研究の成績と他のフルオロキノロン剤における報告とを比較してみる。Stevens ら<sup>48)</sup>は有色ウサギにおいて光学顕微鏡および電子顕微鏡所見ならびに ERG (b 波) を指標としてシプロフロキサシン硝子体内注入の網膜におよぼす影響を注入後14日目まで検討した。彼ら<sup>48)</sup>によればシプロフロキサシン 100 $\mu$ g 注入では網膜に何ら障害がみられなかったのに対し、シプロフロキサシン 250 $\mu$ g 以上の注入では ERG の b 波振幅が減少し、電子顕微鏡所見では桿体外節の乱れが認められ、さらに 1000 $\mu$ g では光学顕微鏡的に桿体外節の消失や桿体内節および内・外顆粒層の萎縮がみられたという。Marchese ら<sup>49)</sup>は光学顕微鏡所見および ERG (b 波) を指標としてシプロフロキサシンを有色ウサギの硝子体内に注入した場合の網膜毒性を検討し、シプロフロキサシン100および 250 $\mu$ g では網膜に影響はみられず、500および 1000 $\mu$ g では視細胞の変性ならびに内顆粒層および神経節細胞層の消失を伴った部分的網膜壊死が生じ、さらに 1000 $\mu$ g では ERG の b 波振幅が著明に減少したと報告した。Mochizuki ら<sup>50)</sup>は白色および有色ウサギにおいてオフロキサシン 200 $\mu$ g 硝子体内注入では注入後4週目まで ERG の b 波、c 波および OP に変化はなく網膜に対して安全と述べている。また東出ら<sup>48)</sup>は有色ウサギにおいてノルフロキサシン硝子体内注入の網膜への影響を検討し、50 $\mu$ g では ERG (a 波、b 波、c 波および

OP)、VEP および光学顕微鏡的に変化がみられないのに対し、500 $\mu$ g では ERG の OP 振幅減少および頂点潜時延長ならびに c 波振幅の減少がみられたと報告した。大桃<sup>51)</sup>によれば白色ウサギの硝子体内にオフロキサシン 300 $\mu$ g を注入したところ ERG の a 波、b 波および OP の変化はみられず光学顕微鏡的網膜所見にも異常はなかったが、ノルフロキサシン 300 $\mu$ g を注入したところ注入3時間後に ERG の b 波および OP の減弱がみられその変化は3日目には回復したという。従ってウサギ眼での硝子体内注入に際して許容される各種フルオロキノロン剤の投与量は 50~300 $\mu$ g の間で近似しており、LFLX の網膜に対する毒性はオフロキサシンやシプロフロキサシンとほぼ同程度でノルフロキサシンより軽度と考えられる。

抗菌剤を細菌に短時間接触させた後に細菌の増殖が一定時間抑制される現象 (postantibiotic effect, PAE) が抗菌剤の効果的な投与法との関連で近年注目されている<sup>53)~55)</sup>。フルオロキノロン剤はアミノ配糖体薬と同様にグラム陽性菌および陰性菌の両者に対して PAE を有し、接触させる薬剤の濃度を増すと PAE 時間は延長するという<sup>56)57)</sup>。またフルオロキノロン剤はグラム陰性菌に対してアミノ配糖体薬と同様に短時間に用量依存性の殺菌効果を示すとされている<sup>58)</sup>。従って最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) に対する病巣内薬剤濃度の比が高くなればなるほど殺菌効果が増す傾向にあると考えられる。ゆえに PAE および用量依存性の殺菌効果という2点から考えて、抗菌剤の硝子体内注入に際しては原因菌に対して必要十分な量でかつ網膜に影響を与えない最大量を投与するのが効果的といえよう。では本研究により網膜に影響をおよぼさないことが判明した LFLX200 $\mu$ g をウサギ硝子体内に注入した際の硝子体内 LFLX 濃度 (約 120 $\mu$ g/ml) は細菌性眼内炎の原因菌に対してはたして有効な濃度であろうか。眼科領域では *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Propionibacterium acnes* などが眼内炎の起因菌として重要視されている<sup>1)~3)58)~60)</sup>。LFLX の MIC は *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Propionibacterium acnes* に対してそれぞれ 3.13, 1.56, 12.5 および 3.13 $\mu$ g/ml であり<sup>61)62)</sup>、これら MIC に対する上記の硝子体内濃度 (120 $\mu$ g/ml) の比をとると *Staphylococcus aureus* では38, *Staphylococcus epidermidis* では77, *Pseudomonas aeruginosa* では10および *Propionibacterium acnes* では38となる。従って LFLX200 $\mu$ g 硝子体内注入は上記の菌による細菌性眼内炎の治療に有効であると推測される。しかしその一方で硝子体内 LFLX 濃度は時間とともに漸減し、注入10~15時間後には *Staphylococcus aureus* および *Staphylococcus epidermidis* の MIC を下回ることが推測される (図25)。従って有効な濃度を維持するためには LFLX の再注入を考慮しなければならない。しかしながら再注入という機械的操作は水晶体や網膜などの損傷の危険性を増加させ、また硝子体の増殖性変化<sup>63)</sup> の引き金にもなりうる。Driebe ら<sup>59)</sup>によれば眼内レンズ移植術後に生じた細菌性眼内炎83例の治療において、抗菌剤再注入の時期にすでに細菌培養が陽性である症例では視力予後が不良であるという。望月<sup>64)</sup>はアミノ配糖体薬のゲンタマイシンにおいて、単回硝子体内注入では網膜に影響を与えないとされる投与量の 80 $\mu$ g を72時間の間隔でウサギ硝子体内に2回注入したところ、再注入4日後に ERG 変化 (振幅の増大あるいは減少) や検眼鏡所見の異常がみ

られたと報告している。これらの点に加え、後述するように LFLX がメラニン親和性を有するので反復注入による眼内への蓄積の問題からも LFLX の硝子体内への再注入は出来るかぎり避けるべきと考える。

中島ら<sup>65)</sup>はフルオロキノロン剤が薬剤特性として高度のメラニン親和性を有することをヒトの毛髪内のフルオロキノロン剤濃度測定を通して指摘した。有色人種の眼球においてはぶどう膜すなわち虹彩、毛様体および脈絡膜ならびに網膜色素上皮に大量のメラニンが含まれているので、フルオロキノロン剤の全身あるいは局所投与による眼組織への蓄積やそれによる毒性の発現が危惧され、眼組織に対するフルオロキノロン剤の安全性の検討が近年きわめて重要とされるに至った<sup>66)</sup>。この問題に関して福田ら<sup>67)</sup>は白色ウサギおよび有色ウサギを用い、摘出眼球組織における LFLX の取り込みおよび放出ならびに生体眼における LFLX の取り込みを検討した。彼ら<sup>67)</sup>によれば摘出眼球において角膜への LFLX の取り込みには白色ウサギと有色ウサギとの間で有意差はなかったが、虹彩毛様体への LFLX の取り込み量は白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高く、しかも虹彩毛様体からの LFLX の放出は白色ウサギに比し有色ウサギで明らかに長時間にわたっていたという。また彼ら<sup>67)</sup>は LFLX を経口投与した場合に LFLX 濃度は角膜、前房水および血清においてはそれぞれ白色ウサギと有色ウサギとの間で有意には相違しなかったが、虹彩毛様体では白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高かったと述べ、各種薬剤の眼内移行動態の検討に際して白色ウサギを使用することの問題点を指摘した。Creel<sup>68)</sup>は生物学的研究における動物の使用に関して白色動物は不適当であり有色動物を用いるべきと述べている。その理由として白色動物ではメラニンを欠くので化学物質とメラニンとの結合や相互作用が評価できないことに加え、白色動物では有色動物に比し神経学的および代謝的に先天異常を有することが多い点を挙げている。また Rubin ら<sup>69)</sup>は Creel<sup>68)</sup>の指摘の反面で白色動物では過去のデータが多く比較しやすい点を挙げ、薬剤の眼毒性についての検討では有色および白色動物の両者の使用を薦めている。以上の点に鑑み、本研究においてはすべての検討において白色および有色ウサギの両者を使用した。その結果 LFLX を硝子体内に注入した場合には、前房水、硝子体、角膜および水晶体などのメラニンを含まない組織では白色ウサギと有色ウサギとの間で LFLX 濃度およびその推移に明らかな差はなかったが、虹彩毛様体および網脈絡膜などのメラニン含有組織では白色ウサギに比し有色ウサギの LFLX 濃度が有意に高く(図30, 31, 表 3, 5), LFLX のメラニン親和性がその原因と考えられた。硝子体内注入後における LFLX の硝子体内濃度に対する前房水内濃度の比は有色ウサギにおいて注入後の時間経過とともに増大し、注入後72時間以降では前房水内濃度が硝子体内濃度を凌駕した(表 6)。井上ら<sup>70)</sup>はヒトにおいて LFLX 内服後の前房水内および血清中の LFLX 濃度を測定し、1回 200mg を1日2回で3日間内服すると投与終了24時間後には前房水内濃度が血清中濃度を凌駕することを報告した。彼ら<sup>70)</sup>はその理由として内服した LFLX が虹彩毛様体内のメラニンに捕捉集積され、血清中の LFLX 濃度が低下すると毛様体から LFLX が逆放出される可能性を指摘している。この報告<sup>70)</sup>に加え、摘出眼において虹彩毛様体に取り込まれた LFLX の放出が白色ウサギに比し有色ウサギでは長時間にわたるとする前述の福田ら<sup>67)</sup>の報告を考えあわせると、本研究の

LFLX 硝子体内注入後において有色ウサギの硝子体内に注入された LFLX が虹彩毛様体内のメラニンに捕捉集積され、硝子体内 LFLX 濃度が時間経過とともに低下すると毛様体から房水中に LFLX が緩徐に放出されることが推測される。そしてこの毛様体からの LFLX 放出により前房水内 LFLX 濃度が硝子体内 LFLX 濃度を凌駕するすなわち濃度の逆転現象(表 6)が生じたものと考えられる。

また本研究において LFLX 経口投与による眼内移行を検討したところ、前房水、硝子体、角膜および水晶体では白色ウサギと有色ウサギとの間で LFLX 濃度に明らかな差はなかったが、虹彩毛様体および網脈絡膜では白色ウサギに比し有色ウサギの LFLX 濃度が有意に高かった(表 7, 8)。この結果は前述の福田ら<sup>67)</sup>の報告に一致しており、硝子体内注入実験の場合と同様に LFLX のメラニン親和性に基づく結果と考えられる。一方、本研究の LFLX 経口投与実験において血清中 LFLX に対する前房水内 LFLX 濃度の比は白色ウサギに比し有色ウサギで低い傾向にあった(表 9)。LFLX 経口投与後には白色ウサギに比し有色ウサギの虹彩毛様体および網脈絡膜 LFLX 濃度が有意に高かった(表 7, 8)ことを考慮すると、血液中の LFLX が眼内に移行する際に虹彩毛様体内のメラニンに捕捉されることにより LFLX の眼内への移行が阻害されており、メラニンが一種のバリアーとして働いている可能性が示唆される。

さて本研究において硝子体内注入および経口投与のいずれの方法でも、投与された LFLX が虹彩毛様体および網脈絡膜内に高濃度に移行することが明らかとなった。ぶどう膜に高濃度に吸着される薬物としてこれまでにクリンダマイシン<sup>71)</sup>や硫酸ゲンタマイシン<sup>72)</sup>などの抗生物質、β遮断剤<sup>73)</sup>、フェノチアジン系薬物<sup>74)</sup>およびクロロキン<sup>75)</sup>などが知られている。なかでもフェノチアジン系薬物およびクロロキンは全身投与により網膜障害を惹起する<sup>76,77)</sup>ことが明らかにされている。また望月<sup>80)</sup>によれば高濃度の硫酸ゲンタマイシンを有色ウサギの硝子体内に注入すると ERG が消失するという。従って LFLX を硝子体内あるいは全身に投与した際の網膜におよぼす影響、特にメラニンの有無により網膜毒性に相違があるか否かを知ることはきわめて重要である。この目的で本研究においては有色ウサギおよび白色ウサギの両者を用い、LFLX 硝子体内注入が網膜におよぼす影響を検討した。網膜色素上皮にはメラニンが多く含まれているので、本研究では網膜色素上皮を主な発生源とする c 波も検討したが、c 波を含めた ERG 所見(図 2~5, 8, 9, 12~15, 17, 18)および光学顕微鏡所見(図 7, 11, 20)においては白色ウサギと有色ウサギとの間に明らかな差はみられず、LFLX 硝子体内注入ではメラニンの有無は網膜毒性の程度にはほとんど影響しないと推定される。従って LFLX 硝子体内注入後の眼内動態(図 25, 27~31 および表 3, 5)をあわせて考慮すると、網膜毒性を来たさない安全な量の LFLX を硝子体内に注入した場合には LFLX が虹彩毛様体や網脈絡膜に捕捉され、その後長時間にわたって徐々に放出され薬効を生ずることが期待できるので、メラニンが一種のドラッグ・デリバリー・システムとして働く可能性も示唆される。

メラニン親和性は LFLX の眼内動態に重大な影響をおよぼすが網膜毒性にはほとんど影響をおよぼさないことが本研究により明らかとなった。それではメラニンと結合した LFLX は抗菌力を有するのであろうか。Fukuda ら<sup>78)</sup>は合成メラニンを用い各種薬剤のメラニンとの結合率を調べ、さらにメラニンと

の結合が抗菌活性におよぼす影響を検討した。彼ら<sup>78)</sup>によれば LFLX のメラニン結合率は4.2~8.6%であり、メラニンと結合しても LFLX の抗菌活性は低下しなかったという。また LFLX と同じフルオロキノロン剤であるオフロキサシンではメラニン結合率が14.3~37.1%であり、メラニンと結合しても抗菌活性は低下しないのに対し、アミノ配糖体の硫酸シソマイシン、硫酸ゲンタマイシンおよびトブラマイシンではメラニン結合率が83.7~95.5%と極めて高くかつメラニンと結合した状態では抗菌活性が非結合の同一薬剤に比し約10~50%までに低下することを報告した<sup>79)</sup>。

LFLX がメラニン親和性を有することから次に問題となるのがメラニン含有組織における LFLX 濃度測定法である。三井ら<sup>60)79)</sup>はフルオロキノロン剤とメラニンとの結合が強固であることから、メラニン含有組織内のフルオロキノロン剤の濃度測定に際しては抽出法および定量法に注意が必要と述べている。すなわち虹彩毛様体からのフルオロキノロン剤の抽出に際して、中性でホモジナイズしてフルオロキノロン剤を解離させた後にクロロホルムなどの有機溶媒で抽出すると、挟雑物が入りにくく測定限界値は低くなるが抽出率は30%以下と不良になるのに対して、強アルカリを加えホモジナイズしてフルオロキノロン剤を解離させた後に中和し有機溶媒で抽出する<sup>80)</sup>と、挟雑物が入るので測定限界値は高くなるが抽出率は70%ぐらいまで良くなるという。特に中性でホモジナイズした後に遠心分離しその上清を用いて濃度測定を行う<sup>81)</sup>と、上清中にはフルオロキノロン剤がほとんど含まれていないので虹彩毛様体内のフルオロキノロン剤の濃度が白色ウサギに比し有色ウサギで低いという誤った結果<sup>81)</sup>を出す危険性があることを彼ら<sup>60)79)</sup>は指摘している。本研究の硝子体内注入後の LFLX 濃度の推移および経口投与1時間後における LFLX 眼内移行の検討では試料からの LFLX 抽出に際して中性のリン酸緩衝液を用いホモジナイズを行っているが、三井<sup>80)</sup>の指摘を考慮して次の処理段階である有機溶媒による抽出にはホモジナイズした試料全体を用いた。これに対し経口投与2時間後における LFLX 眼内移行の検討では、LFLX 抽出法による結果の差異を補足する目的で強アルカリを用いた抽出を行った。いずれの抽出法を用いた場合にも虹彩毛様体内の LFLX 濃度は白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高く、矛盾する結果はなかった。

前述のように局所あるいは全身的に投与された抗菌剤の眼内への移行は一般に不良とされている<sup>10)~13)</sup>。本研究でも LFLX 20mg/kg 経口投与後における硝子体非切除眼(正常眼)の前房水内および硝子体内の LFLX 濃度の平均値は、白色ウサギでは投与1時間後でそれぞれ0.067および0.035 $\mu\text{g/ml}$ 、2時間後でそれぞれ0.338および0.102 $\mu\text{g/ml}$ 、有色ウサギでは投与1時間後でそれぞれ0.156および0.118 $\mu\text{g/ml}$ 、2時間後でそれぞれ0.344および0.230 $\mu\text{g/ml}$ と低く(表7, 8)、LFLX の眼内移行は不良であった。福田ら<sup>28)</sup>によれば LFLX 20mg/kg を白色ウサギに経口投与したところ、前房水内 LFLX 濃度の平均値は投与後90分に最高値の0.55 $\mu\text{g/ml}$ を、また硝子体内 LFLX 濃度の平均値は投与後60分に最高値の0.21 $\mu\text{g/ml}$ を示したという。大石ら<sup>82)</sup>は LFLX 20 および 50mg/kg を白色ウサギに経口投与し、前房水内 LFLX 濃度の平均値が投与後2時間にそれぞれ0.33および0.40 $\mu\text{g/ml}$ と最高値を示し、同じ時刻の硝子体内 LFLX 濃度の平均値は0.12 $\mu\text{g/ml}$ であったと報告しており、本研究の成績は福田ら<sup>28)</sup>および大石ら<sup>82)</sup>の結果に近似していた。

井上ら<sup>70)</sup>は白内障手術に際して LFLX 1回200mgを1日2回で3日間内服させ、手術時に前房水を採取してその LFLX 濃度を測定した。彼ら<sup>70)</sup>によれば前房水内 LFLX 濃度の平均値は最終投与後1~6時間に最高値の1.37 $\mu\text{g/ml}$ となり、以後漸減するものの96時間後においても0.15 $\mu\text{g/ml}$ を維持したという。一方、大石ら<sup>28)</sup>は0.3% LFLX 点眼液を白色ウサギに5分ごとに5回点眼したところ、点眼1時間後の前房水内 LFLX 濃度の平均値が正常眼で7.17 $\mu\text{g/ml}$ 、アルカリ腐食眼では21.32 $\mu\text{g/ml}$ に達したが、硝子体内 LFLX 濃度の平均値が正常眼では0.598 $\mu\text{g/ml}$ 以下、アルカリ腐食眼では0.300 $\mu\text{g/ml}$ 以下であったことを報告した。児玉<sup>83)</sup>は白内障手術に際して0.3% LFLX 点眼液を手術前2日間に1日5回および手術当日に5分ごとに5回点眼し、LFLX の前房内移行を検討した。その結果、前房水内 LFLX 濃度の平均値は最終点眼90分後に最高となり2.69 $\mu\text{g/ml}$ に達していた。井上ら<sup>84)</sup>は同じく白内障患者に0.3% LFLX 点眼液を手術前2日間に1日5回および手術当日に5分ごとに3回点眼して LFLX の前房内移行を検討し、前房水内 LFLX 濃度の平均値は最終点眼120~180分後に最高値の1.300 $\mu\text{g/ml}$ に達したと報告した。また鮫島ら<sup>85)</sup>は0.3% LFLX 点眼液の連続点眼による前房水内 LFLX 濃度維持法を白色ウサギで検討し、最初に30分ごとに3回点眼しそれ以後には1時間間隔で点眼することにより前房水内 LFLX 濃度が約4 $\mu\text{g/ml}$ に維持できることを明らかにした。本研究の成績に加えて以上の報告を鑑みるに、LFLX の点眼による眼内、特に前房内への移行は良好であるが、その硝子体内移行は点眼においても経口投与においても不良であるといえる。従って細菌性眼内炎を発症時の感染部位により房水感染型および硝子体感染型に大別する<sup>86)</sup>と、房水感染型の細菌性眼内炎の治療には LFLX の点眼および経口投与が有用と考えられる。実際に白色ウサギの前房内接種型緑膿菌性眼内炎に対する抗菌剤点眼による抑制効果を検討した報告<sup>87)</sup>では、0.3%硫酸ゲンタマイシンおよび1.0%スルベニシリンナトリウムに比し0.3% LFLX 点眼では著明な眼内炎抑制効果がみられたという。しかし秦野ら<sup>88)89)</sup>が指摘しているように、前房内に感染した細菌はその病原性により差はあるものの比較的容易に硝子体内へと侵入し、しかも硝子体が無血管組織で液性免疫から隔離されていることから細菌が硝子体内に一旦侵入すると極めて急速に硝子体内で増殖し眼内炎を惹起する。従って硝子体感染型<sup>86)</sup>の眼内炎の治療に際しては有効な治療を迅速に行うことが必須であり、硝子体内への LFLX の移行が不良であることを考慮すれば LFLX の硝子体内注入は理にかなった治療法といえる。

ところで、抗菌剤をはじめ薬剤の眼内移行を制御している眼血液関門は虹彩血管および網膜血管にみられる血管内皮型バリアーならびに毛様体無色素上皮および網膜色素上皮にみられる上皮型バリアーから形成されており、種々の眼疾患および手術操作などにより障害をうけることが報告されている<sup>9)</sup>。血管内皮型バリアーの障害例として Cogan ら<sup>90)</sup>は糖尿病性網膜症において網膜毛細血管の壁細胞が特異的に消失することを報告しており、また上皮型バリアーの障害例としては Gass が中心性漿液性網脈絡膜症<sup>91)</sup>や胞状網膜剝離<sup>92)</sup>などの眼疾患で網膜色素上皮層の連続性が断たれると述べている。Sanders ら<sup>93)</sup>は白色ウサギを使用して角膜切開の大きさが眼血液関門におよぼす影響をフルオロフォトメトリーで検討し、切開が大きいほど眼血液関門の障害が著しいことを報告した。また網膜冷凍凝固術<sup>94)</sup>



および網膜光凝固術<sup>85)</sup>などによって眼血液関門が障害されることが明らかにされている。従って細菌性眼内炎においても眼内の高度の炎症により眼血液関門が障害され、抗菌剤を全身投与した場合には血液中から眼内への抗菌剤の移行が亢進している可能性がある。Peyman ら<sup>11)</sup>は全身投与された硫酸ゲンタマイシンの眼内移行を白色ウサギで検討し、実験的緑膿菌感染眼では非感染眼に比し眼内液(前房水、前部硝子体および後部硝子体)中のゲンタマイシン濃度が低かったと報告した。その理由として彼ら<sup>11)</sup>は感染眼において生じた炎症性産物がゲンタマイシンの定量に影響を与えた可能性があるかと推論した。よって実験的眼内炎モデルにおいて全身投与された薬剤の眼内移行を検討する際には薬剤濃度測定におよぼす炎症性産物の影響を明らかにする必要がある、加えて眼内感染の重症度が動物個体間で一定しにくい<sup>86)</sup>ことや感染動物の管理および感染眼からの試料の処理などの問題があるので、細菌感染眼における薬剤の眼内移行動態の検討および評価は極めて難しいと考えられる。一方、硝子体切除術により眼血液関門が障害され、全身投与された薬剤の眼内移行が促進されたとの報告<sup>12)86)87)</sup>が散見される。林ら<sup>12)</sup>は有色ウサギに硝子体切除術を施した後、7~9日目に硫酸ゲンタマイシン 10mg を筋肉内注射しその硝子体内移行を検討した。その結果、硝子体切除眼における硝子体内ゲンタマイシン濃度は硝子体非切除眼に比し有意に高値を示し、硝子体切除術による眼血液関門の障害がその原因であるとした。また Mochizuki ら<sup>86)</sup>は白色ウサギに硝子体切除術を行い、術直後、1日、1週および4週後にセフェム系抗生剤セフトラジムを静脈内注射してその眼内移行を検討したところ、術直後から1週目までは硝子体非切除眼に比し硝子体切除眼の前房水内および硝子体内セフトラジム濃度は有意に高かったが術後4週目には硝子体非切除眼と硝子体切除眼の間で前房水内および硝子体内セフトラジム濃度に有意差はなかったと報告し、これらの所見は硝子体切除術による眼血液関門の障害とその修復の過程を示すものと考えた。そこで本研究においては、眼血液関門が障害された状態における LFLX の眼内移行動態を調べる目的で、硝子体切除術による眼内移行量の変化を検討した。すなわち LFLX 経口投与 1 および 2 時間後における眼各組織内の LFLX 濃度を硝子体非切除眼、術後 1 日目および 1 週目の硝子体切除眼と比較した。その結果、ごく一部を除いたほとんどの眼組織において LFLX 経口投与 1 および 2 時間後のそれぞれの時点での LFLX 濃度には上記 3 者間で有意差はなかった(表 7, 8)。従って硝子体切除術による眼血液関門の障害は全身投与された LFLX の眼内移行に明らかな影響を与えないことが判明した。細菌性眼内炎および硝子体切除術後のそれぞれの状態における眼血液関門の障害の性質が同じとは限らず、また眼血液関門の障害の程度も細菌性眼内炎の重症度や硝子体切除術の方法などで異なると考えられるので、本研究成績から直ちに細菌性眼内炎において全身投与された LFLX の眼内移行が正常眼と同程度であるとはいえない。しかし本研究成績から少なくとも眼血液関門の障害があっても全身投与された薬剤の眼内移行が必ずしも亢進するわけでないことが明らかとなり、細菌性眼内炎の治療において薬剤の眼内移行亢進を期待して硝子体切除術が勧められる場合もあるが<sup>88)</sup>、LFLX では硝子体切除術による眼内移行亢進は期待しがたいといえよう。しかも硝子体切除術の有無および術後日数にかかわらず、虹彩毛様体および網脈絡膜(経口投与 2 時間後の検討では網膜色素上皮-脈絡膜)

における LFLX 濃度は白色ウサギに比し有色ウサギでは有意に高く(表 7, 8)、LFLX のメラニン親和性<sup>79)</sup>を考慮すると全身投与された LFLX の眼内移行は通常のバリアーである眼血液関門に比しメラニンによる捕捉の程度により強く影響されると考えられる。

LFLX をはじめフルオロキノロン剤は細菌の細胞質内に存在する DNA ジャイレース(gyrase)のサブユニット A を標的として、その活性を阻害することにより抗菌力を発揮するという<sup>89)</sup>。すなわち細菌の細胞内に移行したフルオロキノロン剤が DNA ジャイレースにより形成された DNA の切断部位において露出した塩基と水素結合することによりそれ以降の DNA 複製過程が進行しなくなり、DNA 合成が阻害されフルオロキノロン剤が殺菌的に働くと考えられている<sup>100)</sup>。よってフルオロキノロン剤の作用としては DNA 合成阻害作用が主とされているが、高濃度では RNA 合成阻害作用を示す可能性も指摘されている<sup>101)</sup>。一方、網膜では一般に視細胞などにおいて RNA 代謝が活発に行われ<sup>102)</sup>、増殖性硝子体網膜症などの特別な状態を除けば DNA 代謝活性は低いと考えられている。従って正常網膜に対してフルオロキノロン剤が毒性を示す可能性は少ないと推察されるが、高濃度では RNA 合成阻害作用に基づいて毒性を示すことも考えられる。本研究において LFLX 1000 $\mu$ g 注入眼で組織学的に網膜の変性像がみられており(図 20)、1000 $\mu$ g 注入では注入後早期には硝子体内濃度が約 590 $\mu$ g/ml ときわめて高いと推定されることを考えると、この網膜変性が上記の RNA 合成阻害作用に基づく可能性がある。

本研究において LFLX 500 および 1000 $\mu$ g 硝子体内注入では注入後 3 時間目に OP 振幅の減少がみられた(図 15, 18)。この OP 振幅減少はノルフロキサシンのウサギ硝子体内注入実験<sup>46)</sup>およびウサギ摘出眼杯での灌流実験<sup>47)</sup>ならびにオフロキサシンのウサギ摘出眼杯での灌流実験<sup>103)</sup>などの他のフルオロキノロン剤においてもみられ、さらには前述のように酒井ら<sup>43)</sup>の白色ウサギ摘出眼杯での LFLX 灌流実験でも指摘されているから、フルオロキノロン剤に特徴的な ERG 変化である可能性がある。OP 振幅減少は白色および有色ウサギに共通してみられる(図 15)ので、この変化にメラニン親和性が関与しているとは考えにくい。酒井ら<sup>43)</sup>はこの OP 振幅減少についてガンマアミノ酪酸(gamma-aminobutylic acid, GABA)との関連を指摘している。すなわち彼ら<sup>43)</sup>は LFLX 300 $\mu$ M および GABA 50 $\mu$ M を白色ウサギ摘出眼杯に灌流するとそれぞれ OP 振幅の選択的減少をきたすが、GABA 受容体の中のイオンチャンネル共役型の GABA<sub>A</sub> 受容体の拮抗物質であるピククリン(0.2 $\mu$ M)あるいはピクロトキシン(0.2 $\mu$ M)を加えると LFLX および GABA 灌流によって減少していた OP 振幅がそれぞれ回復することを報告し、OP の発生に双極細胞およびアマクリン細胞などの網膜内層の神経細胞の関与が示唆されていること<sup>80)</sup>ならびに GABA 受容体が網膜内層に主に分布することなどを鑑み、ウサギ網膜内において GABA を介する神経刺激の伝達に LFLX が影響をおよぼす可能性があるとしている。フルオロキノロン剤全身投与の際の中枢神経系の副作用として痙攣誘発作用が知られており<sup>104)</sup>、その発生機序としてはフルオロキノロン剤による GABA 受容体結合の阻害が考えられている<sup>105)</sup>。従ってフルオロキノロン剤による OP 振幅の減少および痙攣誘発がそれぞれ網膜および中枢神経系において共に GABA を介する神経伝達系への作用により生じていると考えられ、それぞれの

発生機序を解明していく上で興味深い。例えば赤池ら<sup>106)</sup>は中枢神経系で痙攣発作の発生部位の一つとして知られている海馬の錐体細胞をラットにおいて単離し、パッチクランプ法を用いて GABA 応答に対する各種フルオロキノロン剤の影響および非ステロイド性消炎鎮痛剤併用の影響を検討しており、網膜内の神経細胞においても同様の検討がなされれば OP 振幅減少の機序解明につながる可能性がある。なお本実験においては LFLX 硝子体内注入により減少した OP 振幅が注入後 1 週目までには回復した (図 15) ので、LFLX の GABA を介する神経伝達系への影響は一過性でかつ可逆的な変化であると推測される。

本研究においては LFLX500 および 1000 $\mu$ g 硝子体内注入により ERG 変化ないし組織学的変化がみられた (図 12~15, 17, 18, 20) が、500 および 1000 $\mu$ g 硝子体内注入に際しては点眼用基剤が LFLX の溶解液として用いられているので点眼用基剤の網膜におよぼす影響も問題となる。そこで有色ウサギおよび白色ウサギ各 2 匹において電気生理学的および組織学的に検討したところ、対照眼に比し点眼用基剤注入眼に明らかな変化はみられず (図 21~24)、点眼用基剤は網膜にほとんど影響を与えないことが判明した。

LFLX 硝子体内注入の臨床応用を考える際には、本研究において電気生理学的および組織学的にウサギ網膜に異常を来たさないことが明らかとなった LFLX 投与量 (200 $\mu$ g, ウサギ硝子体内に均等に拡散した場合の硝子体内濃度は 120 $\mu$ g/ml) からヒトでの安全な硝子体内注用量を推測すること (すなわちヒトへの外挿) がきわめて重要である。しかしながら硝子体内注用量についての動物からヒトへの外挿には一定の概念がないのが現状である。米村ら<sup>100)107)</sup>によればウサギ網膜では内顆粒層が比較的薄いのに対し、ヒトでは内顆粒層は厚く細胞も密に配列しているという。またウサギでは網膜血管が髄翼のみに分布しているのに対し、ヒトでは網膜のほぼ全域に分布している<sup>108)</sup>。硝子体容積 (ウサギでは約 1.7ml, ヒトでは約 4ml) に比例させて単純に計算するとウサギでの LFLX 硝子体内注用量 200 $\mu$ g はヒトでは約 470 $\mu$ g に相当するが、ウサギとヒトでは上記のような解剖学的差異がある<sup>109)~108)</sup>ことを考慮にいれて安全域を十分にとると、網膜に対する毒性を回避しかつヒト細菌性眼内炎の治療に有効な LFLX 硝子体内注用量としては 200 $\mu$ g を凌駕すべきでないと考えられる。なおこの硝子体内注用量 (200 $\mu$ g) では、注入した LFLX がヒト硝子体内 (容積約 4ml) に均等に拡散した場合には硝子体内 LFLX 濃度が約 50 $\mu$ g/ml となり、前述の MIC<sup>50/90</sup>を十分に凌駕する。LFLX200 $\mu$ g 硝子体内注入を臨床例で行う際には、LFLX には静脈内注射液が市販されていないので 0.3% LFLX 点眼液 0.067ml を注入することになる。本研究において 0.3% LFLX 点眼液 (0.1ml) 中の基剤の硝子体内注入は網膜に明らかな影響をおよぼさないことが判明しており、0.3% LFLX 点眼液 0.067ml の硝子体内注入は安全と推測される。従って LFLX200 $\mu$ g 硝子体内注入は細菌性眼内炎の治療において今後有用な手段になりうると思われる。

## 結 論

塩酸ロメフロキサシン (LFLX) の硝子体内注入が網膜におよぼす影響を、白色および有色ウサギにおいて ERG の a 波, b 波, c 波, OP および一部の実験では VEP ならびに組織学的検査法を指標として検討し、下記の結果を得た。また硝子体内注

入後の LFLX 眼内動態および LFLX 全身投与後の眼内移行ならびに硝子体切除術が LFLX 眼内移行におよぼす影響に関しても検討し、以下の結果を得た。

1. LFLX100 および 200 $\mu$ g 硝子体内注入では白色および有色ウサギともに a 波, b 波, c 波および OP ならびに VEP の早期成分はほとんど変化せず、組織学的にも網膜に異常所見はみられなかった。

2. LFLX500 $\mu$ g 硝子体内注入では a 波振幅の増大あるいは減少, b 波および c 波振幅の増大ならびに OP 振幅の減少などの ERG 変化がみられたが、いずれの変化も注入後 3 時間から 1 週目において一過性に生じ注入後 8 週目までには回復した。VEP の早期成分に有意な変化はなく、組織学的にも対照眼に比し網膜に異常所見はみられなかった。

3. LFLX1000 $\mu$ g 硝子体内注入では a 波振幅の増大あるいは減少, b 波振幅の増大および c 波振幅の減少ならびに OP 振幅の減少などの ERG 変化がみられたが、いずれの変化も注入後 3 時間から 2 週目において一過性に生じ注入後 4 ないし 8 週目までには回復した。VEP の早期成分に有意な変化はなかった。組織学的には白色ウサギにおいて限局性の網膜変性像がみられた。

4. LFLX200 $\mu$ g 硝子体内注入後の硝子体内 LFLX 濃度は白色ウサギおよび有色ウサギともに注入 24 時間後まで指数関数的に減少し、その半減期はそれぞれ約 2.8 および 3.1 時間であった。LFLX200 $\mu$ g 硝子体内注入後の角膜、水晶体、前房水および硝子体内 LFLX 濃度は各測定時点において白色ウサギと有色ウサギとで近似した値を示したが、虹彩毛様体および網脈絡膜内の LFLX 濃度は注入後 12 時間以降では白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高かった。

5. LFLX20mg/kg 全身投与 1 および 2 時間後の角膜、水晶体、前房水および硝子体内それぞれの LFLX 濃度には白色ウサギと有色ウサギとの間で明らかな差はなく、また正常眼と硝子体切除眼との間にも明らかな差はなかった。LFLX 全身投与後の虹彩毛様体および網脈絡膜内の LFLX 濃度は白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高かったが、正常眼と硝子体切除眼との間では明らかな差を示さなかった。

6. 電気生理学的および組織学的所見を指標にすると、網膜に影響を与えずヒト細菌性眼内炎の治療に用いることができる LFLX 硝子体内注用量として 200 $\mu$ g を推奨する。また LFLX がメラニンを含む眼組織に長時間にわたり残留することから、頻回あるいは長期間の LFLX 局所および全身投与の際には副作用の発現に留意が必要である。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師河崎一夫教授に深甚の謝意を捧げます。また組織学的検討に際して貴重な御助言をいただきました九州大学医学部眼科学教室大西克尚助教授に深謝致します。さらに、直接御指導いただきました望月清文博士をはじめ本研究に御協力下さいました当教室山下陽子学士、小松雅樹学士、棚橋俊郎学士、東出朋巳学士、大久保真司学士、緒方正史学士ならびに実験器具・装置の作製について御協力下さいました本学工作係水野清澄技官に感謝致します。

## 文 献

1) Forster, R. K., Abbott, R. L. & Gelender, H.: Management of infectious endophthalmitis. Ophthalmology,

- 87, 313-319 (1980).
- 2) Puliafito, C. A., Baker, A. S., Haaf, J. & Foster, C. S.: Infectious endophthalmitis: Review of 36 cases. *Ophthalmology*, **89**, 921-929 (1982).
- 3) 秦野 寛, 井上克洋, 的場博子, 栗田正幸, 池田祥子, 田川義継, 亀井俊也, 坂本真栄, 石橋康久, 渡辺亮子, 中野直樹, 吉沢 徹, 玉置泰裕, 澤 充, 矢野啓子, 上杉るり子, 大戸純恵, 臼井正彦, 関 文治, 高村悦子, 中川ひとみ, 三国郁夫, 田沢 博, 坂上富士男, 大石正夫, 桐生純一, 石郷岡均, 横井則彦, 天津 寿, 原 吉幸, 杉本麗子, 塩田 洋, 兼松和代, 阿部真知子, 高岡明彦, 坂田広志, 梶原 良, 鎌田龍二, 宮川真一, 大野重昭, 内田幸男, 北野周作: 日本の眼内炎の現状. -発症動機と起炎菌-. *日眼会誌*, **95**, 369-376 (1991).
- 4) Brinton, G. S., Topping, T. M., Hyndiuk, R. A., Aaberg, T. M., Reeser, F. H. & Abrams, G. W.: Posttraumatic endophthalmitis. *Arch. Ophthalmol.*, **102**, 547-550 (1984).
- 5) Ho, P. C. & Tolentino, F. I.: Bacterial endophthalmitis after closed vitrectomy. *Arch. Ophthalmol.*, **102**, 207-210 (1984).
- 6) Bohigian, G. M. & Olk, R. J.: Factors associated with a poor visual result in endophthalmitis. *Am. J. Ophthalmol.*, **101**, 332-341 (1986).
- 7) Peyman, G. A., Carroll, C. P. & Raichand, M.: Prevention and management of traumatic endophthalmitis. *Ophthalmology*, **87**, 320-324 (1980).
- 8) 上谷彌子, 秋草正子, 高塚忠宏: Cefotiam Dihydrochloride (CTM) のヒト硝子体内移行に関する実験的研究. *日眼会誌*, **87**, 1106-1111 (1983).
- 9) 塩瀬芳彦: 眼内 barrier 機構とその臨床的意義. *臨眼*, **31**, 9-21 (1977).
- 10) Rubinstein, E., Goldfarb, J., Keren, G., Blumenthal, M. & Treister, G.: The penetration of gentamicin into the vitreous humor in man. *Invest. Ophthalmol. & Visual Sci.*, **24**, 637-639 (1983).
- 11) Peyman, G. A., May, D. R., Homer, P. I. & Kasbeer, R. T.: Penetration of gentamicin into the aphakic eye. *Ann. Ophthalmol.*, **7**, 871-880 (1977).
- 12) 林 英之, 百枝 榮, 京野真三, 清沢崇晃: 筋肉内投与されたゲンタマイシンの硝子体切除眼硝子体腔中への移行に関する実験的研究. *眼紀*, **34**, 2305-2308 (1983).
- 13) Pryor, J. G., Apt, L. & Leopold, I. H.: Intraocular penetration of vancomycin. *Arch. Ophthalmol.*, **67**, 608-611 (1962).
- 14) Diamond, J. G.: Intraocular management of endophthalmitis: A systematic approach. *Arch. Ophthalmol.*, **99**, 96-99 (1981).
- 15) Pavan, P. R. & Brinser, J. H.: Exogenous bacterial endophthalmitis treated without systemic antibiotics. *Am. J. Ophthalmol.*, **104**, 121-126 (1987).
- 16) Stern, G. A., Engel, H. M. & Driebe, W. T. Jr.: The treatment of postoperative endophthalmitis: Results of differing approaches to treatment. *Ophthalmology*, **96**, 62-67 (1989).
- 17) Levin, M. R. & D'Amico, D. J.: Traumatic endophthalmitis. In B. J. Shingleton, P. S. Hersh & K. R. Kenyon (eds.), *Eye Trauma*, 1st ed., p242-252, Mosby-Year Book, St. Louis, 1991.
- 18) Snider, J. D., Cohen, H. B. & Chenoweth, R. G.: Acute ischemic retinopathy secondary to intraocular injection of gentamicin. In S. J. Ryan, A. K. Dawson & H. L. Little (eds.), *Retinal Diseases*, 1st ed., p227-232, Grune & Stratton, Orlando, Florida, 1985.
- 19) Conway, B. P. & Campochiaro, P. A.: Macular infarction after endophthalmitis treated with vitrectomy and intravitreal injection. *Arch. Ophthalmol.*, **104**, 367-371 (1986).
- 20) McDonald, H. R., Schatz, H., Allen, A. W., Chenoweth, R. G., Cohen, H. B., Crawford, J. B., Klein, R., May, D. R. & Snider, J. D.: Retinal toxicity secondary to intraocular gentamicin injection. *Ophthalmology*, **93**, 871-877 (1986).
- 21) 三木大二郎, 矢田浩二, 前田利根, 樋田哲夫, 藤原隆明: 抗生剤の硝子体注入による薬物性網膜障害. *あたらしい眼科*, **7**, 143-145 (1990).
- 22) Verma, L., Arora, R. & Sachdev, M. S.: Macular infarction after intravitreal injection of amikacin. *Can. J. Ophthalmol.*, **28**, 241-243 (1993).
- 23) 廣瀬 徹, 三橋 進, 井上松久: NY-198 の細菌学的評価. *Chemotherapy*, **36** (s-2), 1-24 (1988).
- 24) 大石正夫, 大桃明子, 坂上富士男, 田沢 博, 宮尾益也, 栗山 裕, 池尻芳文, 鮫島昭悟: NY-198 (Lomefloxacin) 点眼液の眼内動態に関する研究. *日眼会誌*, **92**, 1825-1832 (1988).
- 25) 福田正道, 周 静聖, 佐々木一之: ピリドンカルボン酸系抗菌剤 (NY-198) の眼組織内移行動態の検討. *眼紀*, **40**, 72-76 (1989).
- 26) 米村大蔵, 河崎一夫: 律動様小波とその臨床. *眼科MOOK No. 14. 眼と電気生理* (田沢 豊編), 第1版, 59-70頁, 金原出版, 東京, 1980.
- 27) 井上治郎, Potts, A. M.: 家兎の EER (Electrically evoked response of the visual system) について. *日眼会誌*, **75**, 765-772 (1971).
- 28) Spivey, B. E. & Pearlman, J. T.: Day-to-day variations in the ERG of humans and rabbits. *Am. J. Ophthalmol.*, **55**, 1013-1020 (1963).
- 29) Lawwill, T.: Practical rabbit electroretinography. *Am. J. Ophthalmol.*, **74**, 135-141 (1972).
- 30) 稲富 誠, 杉町剛美, 中島 章: 麻酔薬のラット ERG におよぼす影響. *眼紀*, **29**, 737-742 (1978).
- 31) Declercq, S. S., Meredith, P. C. A. & Rosenthal, A. R.: Experimental siderosis in the rabbit: Correlation between electroretinography and histopathology. *Arch. Ophthalmol.*, **95**, 1051-1058 (1977).
- 32) Zachary, I. G. & Forster, R. K.: Experimental intravitreal gentamicin. *Am. J. Ophthalmol.*, **82**, 604-611 (1976).
- 33) 大石正夫: 眼科抗生物質療法の理論と実際. *眼臨*, **77**, 387-394 (1983).

- 34) Peyman, G. A., May, D. R., Ericson, E. S. & Apple, D.: Intraocular injection of gentamicin: Toxic effects and clearance. *Arch. Ophthalmol.*, **92**, 42-47 (1974).
- 35) Peyman, G. A., Paque, J. T., Meisels, H. I. & Bennett, T. O.: Postoperative endophthalmitis: A comparison of methods for treatment and prophylaxis with gentamicin. *Ophthalmic Surg.*, **6**, 45-55 (1975).
- 36) D'Amico, D. J., Libert, J., Kenyon, K. R., Hanninen, L. A. & Caspers-Velu, L.: Retinal toxicity of intravitreal gentamicin: An electron microscopic study. *Invest. Ophthalmol. & Visual Sci.*, **25**, 564-572 (1984).
- 37) D'Amico, D. J., Caspers-Velu, L., Libert, J., Shanks, E. T., Schrooyen, M., Hanninen, L. A. & Kenyon, K. R.: Comparative toxicity of intravitreal aminoglycoside antibiotics. *Am. J. Ophthalmol.*, **100**, 264-275 (1985).
- 38) Bennett, T. O. & Peyman, G. A.: Toxicity of intravitreal aminoglycosides in primates. *Can. J. Ophthalmol.*, **9**, 475-478 (1974).
- 39) Libert, J., Ketelbant-Balasse, P. E., Van Hoof, F., Aubert-Tulkens, G. & Tulkens, P.: Cellular toxicity of gentamicin. *Am. J. Ophthalmol.*, **87**, 405-411 (1979).
- 40) Morgan, B. S., Larson, B., Peyman, G. A. & West, C. S.: Toxicity of antibiotic combinations for vitrectomy infusion fluid. *Ophthalmic Surg.*, **10**, 74-77 (1979).
- 41) Fisher, J. P., Civilelto, S. E. & Forster, R. K.: Toxicity, efficacy, and clearance of intravitreally injected cefazolin. *Arch. Ophthalmol.*, **100**, 650-652 (1982).
- 42) Talamo, J. H., D'Amico, D. J., Hanninen, L. A., Kenyon, K. R. & Shanks, E. T.: The influence of aphakia and vitrectomy on experimental retinal toxicity of aminoglycoside antibiotics. *Am. J. Ophthalmol.*, **100**, 840-847 (1985).
- 43) 酒井宏之, 望月清文, 鳥崎真人: ロメフロキサシンのウサギ網膜に及ぼす影響. *日眼会誌*, **97**, 812-819 (1993).
- 44) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響. I. 家兎眼におけるペニシリン系抗生剤の検討. *十全医会誌*, **95**, 468-480 (1986).
- 45) 鳥田宏之: 硝子体手術に関する基礎的研究. その1 家兎眼網膜に及ぼす影響に関する実験的研究. *眼紀*, **33**, 878-890 (1982).
- 46) 望月清文, 鳥崎真人, 河崎一夫, 米村大蔵: 網膜におよぼす抗生物質の影響. In vivo ERG による検討. *硫酸ゲンタマイシン*. *日眼会誌*, **90**, 1173-1178 (1986).
- 47) 酒井宏之, 小松雅樹, 鳥崎真人, 望月清文, 岡山欣彦, 北野貢市, 河崎一夫: ニューキノロン系抗菌剤ノルフロキサシンの家兎網膜に及ぼす影響-In vitro ERG による検討. *あたらしい眼科*, **8**, 929-932 (1991).
- 48) 東出朋巳, 望月清文, 鳥崎真人, 山下陽子, 小松雅樹, 棚橋俊郎, 草嶋久生, 前田明利: ノルフロキサシンの有色家兎網膜に及ぼす影響. *あたらしい眼科*, **10**, 261-266 (1993).
- 49) Stevens, S. X., Fouraker, B. D. & Jensen, H. G.: Intraocular safety of ciprofloxacin. *Arch. Ophthalmol.*, **109**, 1737-1743 (1991).
- 50) Marchese, A. L., Slana, V. S., Holmes, E. W. & Jay, W. M.: Toxicity and pharmacokinetics of ciprofloxacin. *J. Ocul. Pharmacol.*, **9**, 69-76 (1993).
- 51) Mochizuki, K., Torisaki, M. & Wakabayashi, K.: Effects of vancomycin and ofloxacin on rabbit ERG in vivo. *Jpn. J. Ophthalmol.*, **35**, 435-445 (1991).
- 52) 大桃明子: Norfloxacin, Ofloxacin の硝子体内注入に関する基礎的検討-第II報 網膜毒性-. *あたらしい眼科*, **8**, 651-654 (1991).
- 53) 清水喜八郎, 戸塚恭一, 熊田徹平, 片平潤一, 深田智子: 化学療法の今後への展望. *臨床と研究*, **65**, 1-9 (1988).
- 54) 大石正夫: 細菌性眼感染症と化学療法. *眼臨*, **84**, 471-477 (1990).
- 55) 戸塚恭一, 長谷川裕美, 菊池 賢, 深田智子, 清水喜八郎: ファルマコキネティック・パラメーターからの検討. *化学療法の領域*, **5**, 1056-1062 (1989).
- 56) 清水喜八郎, 戸塚恭一, 深田智子: ニューキノロン薬の postantibiotic effect (PAE). *キノロン薬* (上田 泰, 清水喜八郎, 紺野昌俊, 松本文夫編), 第1版, 121-126 頁, ライフ・サイエンス, 東京, 1991.
- 57) 浅利誠志, 中川直子, 大橋裕一, 網野信行, 宮井 深: MASA に対するオフロキサシン (OFLX) の PAE に関する基礎検討と臨床効果. *新薬と臨床*, **39**, 1624-1629 (1990).
- 58) Rowsey, J. J., Newsom, D. L., Sexton, D. J. & Harms, W. K.: Endophthalmitis: Current approaches. *Ophthalmology*, **89**, 1055-1066 (1982).
- 59) Driebe, W. T. Jr., Mandelbaum, S., Forster, R. K., Schwartz, L. K. & Culbertson, W. W.: Pseudophakic endophthalmitis: Diagnosis and management. *Ophthalmology*, **93**, 442-448 (1986).
- 60) Meisler, D. M. & Mandelbaum, S.: *Propionibacterium*-associated endophthalmitis after extracapsular cataract extraction: Review of reported cases. *Ophthalmology*, **96**, 54-61 (1989).
- 61) Hirose, T., Okezaki, E., Kato, H., Ito, Y., Inoue, M. & Mitsuhashi, S.: In vitro and in vivo activity of NY-198, a new difluorinated quinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **31**, 854-859 (1987).
- 62) 加藤直樹, 宮内正幸, 渡辺邦友, 上野一恵: 嫌気性菌に対する NY-198 の抗菌力. *Chemotherapy*, **36** (s-2), 75-86 (1988).
- 63) Machemer, R.: Proliferative vitreoretinopathy (PVR): A personal account of its pathogenesis and treatment. *Invest. Ophthalmol. & Visual Sci.*, **29**, 1771-1783 (1988).
- 64) 望月清文: 網膜におよぼす硫酸ゲンタマイシンの影響. *十全医会誌*, **101**, 897-939 (1992).
- 65) 中島光好, 植松俊彦: 臨床薬理学からみたキノロン薬, キノロン薬 (上田 泰, 清水喜八郎, 紺野昌俊, 松本文夫編), 第1版, 99-106 頁, ライフ・サイエンス, 東京, 1991.
- 66) 三井幸彦: フルオロキノロン剤の問題点. *あたらしい眼科*, **9**, 215-223 (1992).
- 67) 福田正道, 佐々木一之: 化学療法剤の眼内移行動態におけるメラニンの関与. *日眼会誌*, **92**, 1839-1843 (1988).
- 68) Creel, D.: Inappropriate use of albino animals as models in research. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **12**, 969-977 (1980).
- 69) Rubin, L. F. & Weisse, I.: Species differences

relevant for ocular toxicity studies. In O. Hockwin, K. Green & L. F. Rubin (eds.), Manual of Oculotoxicity Testing of Drugs, 1st ed., p177-191, Gustav Fischer, Stuttgart, 1992.

- 70) 井上慎三, 松村香代子, 西原 勝, 三崎昌史: ヒトにおけるロメフロキサシン内服後の特異な房水内動態—とくにメラニンの関与について—あたらしい眼科, 10, 87-90 (1993).
- 71) Tabbara, K. F. & O'Connor, G. R.: Ocular tissue absorption of clindamycin phosphate. Arch. Ophthalmol., 93, 1180-1185 (1975).
- 72) Barza, M., Baum, J. L. & Kane, A.: Comparing radioactive and trephine-disk bioassays of dicloxacillin and gentamicin in ocular tissues in vitro. Am. J. Ophthalmol., 83, 530-539 (1977).
- 73) Nagata, A., Mishima, H. K., Kiuchi, Y., Hirota, A., Kurokawa, T. & Ishibashi, S.: Binding of antiglaucomatous drugs to synthetic melanin and their hypotensive effects on pigmented and nonpigmented rabbit eyes. Jpn. J. Ophthalmol., 37, 32-38 (1993).
- 74) Potts, A. M.: The concentration of phenothiazines in the eye of experimental animals. Invest. Ophthalmol., 1, 522-530 (1962).
- 75) Bernstein, H., Zvaifler, N., Rubin, M. & Mansour, S. A. M.: The ocular deposition of chloroquine. Invest. Ophthalmol., 2, 384-392 (1963).
- 76) Weekley, R. D., Potts, A. M., Reboton, J. & May, R. H.: Pigmentary retinopathy in patients receiving high doses of a new phenothiazine. Arch. Ophthalmol., 64, 95-106 (1960).
- 77) Wetterholm, D. H. & Winter, F. C.: Histopathology of chloroquine retinal toxicity. Arch. Ophthalmol., 71, 116-121 (1964).
- 78) Fukuda, M. & Sasaki, K.: Changes in the antibacterial activity of melanin-bound drugs. Ophthalmic Res., 22, 123-127 (1990).
- 79) 三井幸彦, 三田四郎: オフロキサシン点眼液の有色動物における眼内動態—とくに眼の安全性について—あたらしい眼科, 10, 83-86 (1993).
- 80) Uematsu, T., Miyazawa, N. & Nakashima, M.: The measurement of ofloxacin in hair as an index of exposure. Eur. J. Clin. Pharmacol., 40, 581-584 (1991).
- 81) 大多和昌克, 桜井英三, 釦持とし江, 久野博司, 花見正幸, 白居敏仁: Norfloxacin 点眼液 6 日間連続投与時の白色兔ならびに有色兔における眼内移行性. あたらしい眼科, 5, 413-418 (1988).
- 82) 大石正夫, 坂上富士男, 大桃明子, 田沢 博, 徳田久弥, 矢田浩二, 清水千尋, 馬詰良比古, 葉田野 博, 若松和代, 原二郎, 谷口永津, 岡本茂樹, 岡村良一, 安東えい子, 鎌田龍二, 三村康男, 塩田 洋, 佐々木一之, 富井隆夫, 渡辺のり子: 眼科領域における新合成抗菌剤 NY-198 (Lomefloxacin) の基礎的検討ならびに臨床的評価. あたらしい眼科, 6, 1041-1065 (1989).
- 83) 児玉俊夫: NY-198 (Lomefloxacin) 点眼液の前房水移行について. 眼臨, 85, 63-65 (1991).
- 84) 井上慎三, 松村香代子: Lomefloxacin 点眼液 (NY-198) の前房水内移行の検討. 眼臨, 85, 79-81 (1991).
- 85) 鮫島昭悟, 小河貴裕, 内田幸男: NY-198 (Lomefloxacin) の房水中での有効濃度維持のための点眼方法の検討. あたらしい眼科, 8, 285-289 (1991).
- 86) 秦野 寛: 細菌性眼内炎の診断と治療. 臨眼, 43, 1077-1080 (1989).
- 87) 秦野 寛, 井上克洋, 王 麗萍, 肖 霞: Lomefloxacin (LFLX) 点眼のウサギ前房内接種型緑膿菌性眼内炎に対する抑制効果. 眼臨, 85, 1403-1408 (1991).
- 88) 秦野 寛: 緑膿菌性眼内炎の実験的研究—前房内接種における菌株と病原性について—. 日眼会誌, 86, 839-845 (1982).
- 89) 秦野 寛, 佐々木隆敏, 田中直彦: 緑膿菌性眼内炎の実験的研究—硝子体内接種による病像, 眼内生菌数, ERG—. 日眼会誌, 92, 1758-1764 (1988).
- 90) Cogan, D. G., Toussaint, D. & Kuwabara, T.: Retinal vascular patterns. IV. Diabetic retinopathy. Arch. Ophthalmol., 66, 366-378 (1961).
- 91) Gass, J. D. M.: Pathogenesis of disciform detachment of the neuroepithelium. II. Idiopathic central serous choroidopathy. Am. J. Ophthalmol., 65, 587-615 (1967).
- 92) Gass, J. D. M.: Bullous retinal detachment: An unusual manifestation of idiopathic central serous choroidopathy. Am. J. Ophthalmol., 75, 810-821 (1973).
- 93) Sanders, D. R., Spigelman, A., Kraff, C., Lagouros, P., Goldstick, B. & Peyman, G. A.: Quantitative assessment of postsurgical breakdown of the blood-aqueous barrier. Arch. Ophthalmol., 101, 131-133 (1983).
- 94) Jaccoma, E. H., Conway, B. P. & Campochiaro, P. A.: Cryotherapy causes extensive breakdown of the blood-retinal barrier: A comparison with argon laser photocoagulation. Arch. Ophthalmol., 103, 1728-1730 (1985).
- 95) Noth, J. M., Vygantas, C. & Cunha-Vaz, J. G. F.: Vitreous fluorophotometry evaluation of xenon photocoagulation. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., 17, 1206-1209 (1978).
- 96) Mochizuki, K., Yamashita, Y., Torisaki, M., Komatsu, M., Tanahashi, T. & Kawasaki, K.: Intraocular kinetics of ceftazidime (Modacin®). Ophthalmic Res., 24, 150-154 (1992).
- 97) 西村葉子, 林 英之, 生井昭子, 大平元昭, 大島健司: 硝子体切除眼のフルオロフォトメトリー. 眼紀, 35, 1450-1454 (1984).
- 98) 矢田浩二, 樋田哲夫: 術後眼内炎および転移性眼内炎. 眼科 MOOK No.44. 最新の眼科薬物療法 (藤原隆明編), 第1版, 113-120 頁, 金原出版, 東京, 1990.
- 99) 佐藤謙一, 安江徳太郎, 星野一樹: キノロンの DNA ジャイレース阻害作用. ニューキノロン. あすの抗菌剤をめざして (三橋 進編), 第1版, 121-127 頁, 学会出版センター, 東京 1991.
- 100) 星野一樹, 佐藤謙一: キノロンの DNA 結合性について. ニューキノロン. あすの抗菌剤をめざして (三橋 進編), 第1版, 134-139 頁, 学会出版センター, 東京, 1991.
- 101) Crumplin, G. C. & Smith, J. T.: Nalidixic acid: An antibacterial paradox. Antimicrob. Agents chemother., 8,

251-261 (1975).

102) Korenbrot, J. I. & Fernald, R. D.: Circadian rhythm and light regulate opsin mRNA in rod photoreceptors. *Nature*, 337, 454-457 (1989).

103) 酒井宏之, 望月清文, 鳥崎真人, 山下陽子, 小松雅樹, 棚橋俊郎, 岡山欣彦: オフロキサシンのウサギ網膜に及ぼす影響. *眼紀*, 43, 1226-1231 (1992).

104) 堀 誠治, 嶋田基五郎, 宮原 正, 栗岡 晋, 松田 誠: キノロン系化学療法剤の痙攣発現機序に関する研究. *神経化学*, 26, 178-180 (1987).

105) 赤池紀扶, 海老原 覚: 薬剤のレセプター阻害による副作用

用—ニューキノロン剤を中心として—. *ファルマシア*, 28, 758-760 (1992).

106) 米村大蔵, 升田義次, 八田正幸: 哺乳類, 鳥類及び冷血動物における ERG の律動様小波と網膜の組織学的所見について. *日眼会誌*, 67, 339-344 (1963).

107) 米村大蔵, 升田義次: 家兎網膜の Visual Streak と神経節細胞の密度. *日眼会誌*, 74, 1-5 (1970).

108) Wong, I. G.: Experimental bacterial endophthalmitis. In K. F. Tabbara & R. M. Cello (eds.), *Animal Models of Ocular Diseases*, 1st ed., p137-142, Springfield, Illinois, 1982.

**Non-toxic Intravitreal Dosage and Intraocular Pharmacokinetics of Lomefloxacin** Makoto Torisaki,  
Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med Soc., 103, 491—  
516 (1994)

**Key words** lomefloxacin, intravitreal injection, retinal toxicity, intraocular pharmacokinetics, melanin

#### Abstract

The non-toxic concentration of lomefloxacin hydrochloride (LFLX) for its intravitreal use and its intraocular pharmacokinetics were studied in albino and pigmented rabbits. The retinal damage caused by LFLX was monitored by electroretinogram (ERG), the visually evoked potential (VEP) and histological examination. The concentration of LFLX in ocular tissues including melanin-containing tissues was studied in vitrectomized eyes and non-vitrectomized eyes to evaluate the effects of the melanin-affinity of LFLX. An intravitreal injection of 100  $\mu$ g or 200  $\mu$ g LFLX caused no abnormal changes in any terms of the a-wave, the b-wave, the c-wave, the oscillatory potential, the initial positive responses of the VEP or retinal histological findings. An increase in the b-wave amplitude and/or a decrease in amplitude of the oscillatory potential were observed in all 6 cases which received 500  $\mu$ g or 1000  $\mu$ g LFLX injections. The intravitreal concentration of LFLX decreased exponentially within 24 hours after an intravitreal injection of 200  $\mu$ g, with a half-life of 2.8 and 3.1 hours in the albino and pigmented rabbits, respectively. The LFLX concentrations in the iris-ciliary body and the choroid-retina after an intravitreal injection were significantly higher in the pigmented rabbits than in the albino rabbits, whereas those in the cornea, the lens, the aqueous humor and the vitreous humor were similar in both the albino and pigmented rabbits. The LFLX concentrations in the cornea, the lens, the aqueous humor and the vitreous humor after an oral administration of 20 mg/kg LFLX were similar in the non-vitrectomized and vitrectomized eyes as well as in the albino and pigmented rabbits. The LFLX concentrations in the iris-ciliary body and the choroid-retina after an oral administration of 20 mg/kg LFLX were also similar in the non-vitrectomized and vitrectomized eyes, but they were significantly higher in the pigmented rabbits than in the albino rabbits. On the basis of the present results obtained by electrophysiological and histological examinations, the author recommends 200  $\mu$ g as a non-toxic and therapeutic dose of LFLX in intravitreal injection for the treatment of bacterial endophthalmitis. Sufficient care should be taken to avoid ocular side effects in case of multiple or long-term administration of LFLX, either topically or systemically, because of its persistency in melanin-containing ocular tissues.